

# **Prädiktive Wertigkeit von Parametern des oxidativen Status bei Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von:

Anne Heihoff-Klose

geboren am 07.12.1977 in Salzkotten

angefertigt an:

Universität Leipzig, Universitätsfrauenklinik

Betreuer:

Prof.Dr.med.habil. H. Stepan

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom:24.01.2012

# **Bibliographische Beschreibung**

Heihoff -Klose, Anne

Prädiktive Wertigkeit von Parametern des oxidativen Status bei  
Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung

**Universität Leipzig, Dissertation**

**92 Seiten, 246 Literaturangaben, 40 Abbildungen, 12 Tabellen**

## **Referat:**

Eine Dysbalance zwischen Sauerstoffradikalen und der plasmatischen antioxidativen Kapazität sowie eine gesteigerte Aktivität der neutrophilen Granulozyten werden als mögliche pathophysiologische Faktoren der Schwangerschaftserkrankungen Präeklampsie (PE) und intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) diskutiert. Das Ziel der Studie war, zu prüfen, ob der plasmatische antioxidative Status und die Plasmaspiegel der neutrophilen Granulozyten Myeloperoxidase und PMN Elastase bei Schwangerschaften mit uteriner Perfusionsstörung, die ein Hochrisikokollektiv für die oben genannten Schwangerschaftskomplikationen darstellen, verändert sind. Die Messungen mit dem immundiagnostischen ELISA zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität (ImAnOx) ergaben, dass eine signifikante Erniedrigung der Totalen Antioxidativen Kapazität im Hochrisikokollektiv vorlag. Eine Verbesserung der Risikobeurteilung war durch den ImAnOx-Test nicht möglich. Die Berechnung des Antioxidativen Quotienten durch die zusätzliche Bestimmung des Harnsäurespiegels konnte die Voraussage nicht verbessern. Zur inflammatorischen Komponente mit Hilfe der Enzymspiegelmessungen zeigten die Ergebnisse weder einen Zusammenhang mit der uterinen Perfusionsstörung noch verbesserten sie die Einschätzung des Risikos. Anhand der Ergebnisse wird deutlich, dass mit der uterinen Dopplersonographie insbesondere für das fetale Geburtsgewicht eine Kalkulation möglich ist.

## Inhalt

Bibliographische Beschreibung .....	I
Inhalt .....	II
1    Einleitung .....	1
2    Literaturübersicht .....	4
2.1    Zur Definition und allgemeinen Bedeutung von Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung .....	4
2.2    Trophoblastinvasion .....	6
2.3    Anti - Angiogene Faktoren und ihre Rolle in der Entstehung und Vorhersage der Präeklampsie .....	8
2.4    Metabolische Veränderungen .....	11
2.5    Inflammation .....	12
2.5.1    Funktion des neutrophilen Granulozyten .....	12
2.5.2    Degranulationsprozess .....	12
2.5.3    Granulainhaltsstoffe .....	13
2.6    Oxidativer Stress .....	18
2.6.1    Allgemeine oxidative und antioxidative Mechanismen .....	18
2.6.2    Oxidativer Stress in der Schwangerschaft .....	19
2.6.3    PE / IUGR und oxidativer Stress .....	20
2.6.4    Die Lipidperoxidation und ihre Folgen .....	21
2.6.5    Malondialdehyd .....	22
2.6.6    Isoprostane .....	22
2.6.7    Stickstoffmonoxid (NO) wird zu Nitritperoxid .....	23
2.6.8    Harnsäure .....	24

2.6.9	Totale Antioxidative Kapazität .....	24
2.7	Dopplersonographie .....	25
2.7.1	Exkurs: Physikalische und technische Grundlagen.....	25
2.7.2	Bewertung des dopplersonographisch gemessenen Blutflusses .....	28
2.7.3	Die uteroplazentare Perfusion in der normalen Schwangerschaft.....	30
2.7.4	Uteroplazentare Perfusionsdiagnostik bei Schwangerschaften mit PE oder IUGR .....	32
3	Material und Methoden .....	35
3.1	Patientinnen.....	35
3.2	Doppler .....	37
3.3	MPO-ELISA.....	38
3.3.1	Prinzip der MPO-Assay-Bestimmung .....	39
3.3.2	Durchführung der MPO-Assay-Bestimmung .....	39
3.3.3	Auswertung der MPO-Assay-Bestimmung .....	40
3.4	PMN-Elastase-Assay-Bestimmung .....	40
3.4.1	Prinzip der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung .....	40
3.4.2	Durchführung der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung .....	42
3.4.3	Auswertung der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung .....	43
3.5	Bestimmung der Totalen Antioxidativen Kapazität (TAK, ImAnOx-Wert)..	43
3.5.1	Prinzip der TAK-Bestimmung .....	43
3.5.2	Durchführung der TAK-Bestimmung .....	44
3.5.3	Auswertung der TAK-Bestimmung .....	45
3.6	Bestimmung der Harnsäure (2,6,8-Trihydroxypurin) .....	45
3.7	Statistik .....	46

4	Ergebnisse .....	48
4.1	Klinische Eigenschaften der untersuchten Probandinnen .....	49
4.2	Untersuchungen des Plasmas .....	51
4.2.1	Myeloperoxidase .....	51
4.2.2	PMN- Elastase .....	56
4.2.3	ImAnOx-Test .....	61
4.2.4	Perfusionsstörung im zweiten Trimenon mit unauffälligem Verlauf vs. PE/IUGR-Entwicklung .....	66
4.3	Zusammenfassende Korrelationsberechnungen der Parameter .....	71
4.4	Die uterine Dopplersonographie .....	72
5	Diskussion .....	78
5.1	Uterine Perfusionsdiagnostik .....	78
5.2	Allgemeine Parameter des untersuchten Kollektivs .....	81
5.3	Prädiktive Wertigkeit der untersuchten Parameter .....	82
5.4	Enzyme aus den azurophilen Granula der neutrophilen Granulozyten zur Vorhersage der Präeklampsie und/oder IUGR .....	82
5.5	Antioxidative Kapazität des Plasmas zur Risikostratifizierung .....	84
5.6	Ausblick .....	91
	Zusammenfassung der Arbeit .....	VI
	Literaturverzeichnis .....	VIII
	Abkürzungsverzeichnis .....	XXXIII
	Anhang .....	XXXVIII

# 1 Einleitung

Die Präeklampsie (im Folgenden: PE) ist eine schwangerschaftsppezifische Multisystemerkrankung, die 2 bis 8 % aller Schwangerschaften weltweit betrifft und noch immer eine der Hauptursachen für fetale und maternale Morbidität und Mortalität darstellt.

Die Inzidenz in der dunkelhäutigen Bevölkerung ist gegenüber Regionen mit überwiegend kaukasischer Bevölkerung erhöht. Insgesamt kann sie für 10 bis 15 % der maternalen Todesfälle in der Schwangerschaft verantwortlich gemacht werden (Noris et al. 2005, Roberts et al. 2002, Duley 2009, Verlohren et Dudenhausen 2009). Das Wachstum dystropher bzw. wachstumsretardierter Kinder liegt unterhalb der 10. Perzentile im Wachstumsdiagramm altersgleicher Feten (Schneider et Steiner 2008). Präeklampsie verursacht 12 % der fetalen Wachstumsretardierungen (*Intrauterine Growth Restriction*, im Folgenden IUGR), und 1/5 dieser IUGR werden zu früh geboren (Duley 2009).

Neonatologische Intensivüberwachung ist damit gefordert, was wiederum erklärt, dass 20 % der Ausgaben einer Neonatologie durch die PE verursacht werden (Verlohren et Dudenhausen 2009). Der Zugang zur neonatologischen Intensivversorgung ist in den Entwicklungsländern, wo die Inzidenz der Präeklampsie am höchsten ist, oft nicht gegeben, sodass fetale Mortalität und Morbidität deutlich höher sind als an Orten, an denen eine Intensivversorgung möglich ist.

Darüber hinaus scheinen die Erkrankungen auch Langzeitfolgen für Mutter und Kind zu haben. Die Mütter haben ein erhöhtes Risiko, im späteren Leben an Apoplex, koronaren Herzerkrankungen und Angina pectoris zu erkranken. Feten, die einer PE exponiert waren, entwickeln häufiger eine gestörte Glucosetoleranz, Diabetes und Bluthochdruck (Duley 2009). Es wird deutlich, dass zum einen die persönlichen Folgen für Mutter und Kind gravierend sein können, dass zum anderen aber auch schwerwiegende ökonomische Folgen für das Gesundheitssystem zu beherrschen sind. Es scheint daher geboten, Tests zu entwickeln, die eine bessere Risikoidentifikation ermöglichen, damit

Frauen mit erhöhtem Erkrankungsrisiko an einem Perinatal Zentrum mit optimaler Versorgung entbinden können.

Wichtig ist natürlich für Entwicklungsländer, dass diese Tests kostengünstig, leicht beschaffbar und wenn möglich auch selbst produzierbar sind.

Über die Pathogenese von Präeklampsie und IUGR herrscht in der Forschung noch längst keine Einigkeit.

Obwohl bekannt ist, dass die Invasion der Zytotrophoblasten in die uterinen Spiralarterien misslingt und somit die physiologische Weitstellung der Gefäße ausbleibt, bleibt die Erkrankung zunächst klinisch inapparent. Somit bedarf die pathophysiologische Kausalkette zwischen insuffizienter Trophoblastinvasion und klinisch manifester PE bzw. IUGR einer Klärung (Granger et al. 2001). Wie auch van Wijk betont, fehlt der Faktor X, der die beiden bekannten Faktoren verbindet (van Wijk et al. 2000).

Mit der dopplersonographischen Messung der uterinen Perfusion im zweiten Trimenon steht seit vielen Jahren eine einfache, nicht invasive Methode zur Verfügung, um eine Risikobewertung für die genannten Schwangerschaftserkrankungen vorzunehmen. Stuart Campbell beschrieb schon 1986, dass die Messung der uterinen Perfusion im 2. Trimenon ein hervorragendes Instrument sei, um eine negative Vorhersage für das durch gestörte Trophoblastinvasion bedingte Auftreten einer Schwangerschaftserkrankung zu treffen. Die prädiktive Wertigkeit dieser Methode für das tatsächliche Auftreten der Erkrankung wird aber noch immer unterschiedlich bewertet.

Da die durch eine Perfusionsstörung verursachte IUGR der Genese der Präeklampsie entspricht, werden beide Schwangerschaftserkrankungen hier gemeinsam betrachtet. Die IUGR - Entwicklung bei erhöhtem uteroplazentaren Widerstand ist eine vorzeitige Mangelentwicklung des Feten, die durch die unzureichende maternale Versorgung hervorgerufen wird. Die Dekompensation des maternalen Endothels mit dem Vollbild der Präeklampsie muss nicht zwangsläufig erfolgen, und im gleichen Maße kann auch die fetale Wachstumsretardierung ausbleiben.

Aspekte, die in der Literatur mit beiden Schwangerschaftserkrankungen assoziiert

wurden, sind der oxidative Stress und die diesen verursachende neutrophile Aktivität. Oxidativer Stress, also eine Imbalance zwischen freien Radikalen und der Kapazität an schützenden Antioxidantien, wird als möglicher Promotor für vaskuläre Dysfunktion und endotheliale Schädigung angeführt (Hubel 1999, Chappell et al. 1999, Chappell et al. 2002, Bowen et al. 2001). Daher stellt sich die Frage, ob Marker für oxidativen Stress bereits vor der klinischen Erscheinung der hier untersuchten Erkrankungen messbar sind. Wäre dies der Fall, könnte für Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion ein oxidativer Status oder eine Enzymspiegelmessung erhoben werden, die eine klinisch anwendbare Ergänzung zur Dopplersonographie möglich machen würde.

In der vorliegenden Studie wurden Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion und ohne pathologische uterine Perfusion als Kontrollgruppe zwischen der 18. und 24. SSW eingegliedert. Eine Blutentnahme folgte, sodass Parameter der neutrophilen Aktivität und des oxidativen Stresses im Plasma gemessen werden konnten.

Unsere Untersuchung war von folgenden Fragestellungen geleitet:

- Ist eine veränderte neutrophile Aktivität auch schon zum Zeitpunkt der Screeninguntersuchung im zweiten Trimenon bei Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion messbar?
- Zeigen Schwangere mit einer pathologischen Perfusion eine veränderte antioxidative Kapazität?
- Hat die Bestimmung der eben genannten Parameter einen klinischen Nutzen, indem sie die prädiktive Wertigkeit des Dopplers verbessern und somit eine bessere Beobachtung des Hochrisikokollektivs und eine frühere Intervention ermöglichen?



## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Zur Definition und allgemeinen Bedeutung von Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung

Die Präeklampsie ist nach der *Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy* (Brown et al. 2001) durch Hypertonus und Proteinurie gekennzeichnet, die gemeinsam und erstmalig nach der 20. Schwangerschaftswoche auftreten und sich bis zum 40. Tag post partum normalisiert haben. Durch eine sofortige Entbindung kann für die Mutter eine restitutio ad integrum erwartet werden. Diese Maßnahme kann zwar Komplikationen von der Mutter abwenden, ist aber oft mit erheblicher Frühgeburtlichkeit verbunden. Ein persistierender systolischer Blutdruckwert von  $\geq 140$  mmHg bzw. diastolisch von  $\geq 90$  mmHg mit Proteinurie  $\geq 0,3$  g im 24-Stunden-Sammelurin oder auch ein einfach positiver Urinteststreifen, gleichwertig mit 30 mg/dl in einer Urinprobe, die erstmalig nach der 20. SSW einsetzen, werden als Präeklampsie bezeichnet. Eine Pfropfgestose wird diagnostiziert, wenn zu einem vorher bestehenden chronischen Bluthochdruck eine Proteinurie hinzu kommt ( $\geq 0,3$  g im 24-Stunden-Sammelurin oder ein  $\geq 1$  positiver Urinteststreifen nach der 20. SSW), oder wenn zu einer bestehenden Proteinurie eine Hypertonie hinzu kommt (Brown et al. 2001, Rath et al. 2010).

Klinisch unterscheidet man eine *Early Onset Preeclampsia*, die vor der 34+0. SSW beginnt, von einer *Late Onset Preeclampsia*, die nach der 34+0. SSW beginnt. Eine schwere Präeklampsie liegt vor, wenn Parameter wie ein systolischer Blutdruckwert von  $>170$  mmHg oder ein diastolischer Wert von  $\geq 110$  mmHg, eine größere Konzentration an Proteinurie ( $\geq 5,0$  g Protein im 24-Stunden-Sammelurin), eine Nierenfunktionseinschränkung (Kreatinin  $>0,9$ g/dl, Oligurie  $<500$  ml / 24h), eine Leberbeteiligung (Transaminasenanstieg, schwere Oberbauchschmerzen), Lungenödem, hämatologische Symptome (Thrombozytopenie, Hämolyse) oder neurologische Symptome (schwere Kopfschmerzen, Sehstörungen) kombiniert auftreten (Rath et al. 2010, Verlohren et Dudenhausen 2009). Additiv zum Bluthochdruck und der Proteinurie auftretende neurologische Symptome mit Konvulsionen werden als Eklampsie bezeichnet (Knichwitz et Klockenbusch 2008).

Ein fetales Schätzwicht unterhalb der 10. Perzentile für das per Ultraschall ermittelte Schätzwicht wird als SGA- (*Small for Gestational Age*) Fetus bezeichnet. Im Gegensatz zum genetisch kleinen Kind, das in der Regel ein kontinuierliches Wachstum auf niedrigem Perzentilniveau aufweist, erreicht das intrauterin gefährdete Kind sein vorgegebenes Wachstumspotenzial aufgrund externer Einflüsse nicht. Diese Feten gehören zwar auch zu den SGA-Feten, werden aber als intrauterin wachstumsretardiert (IUGR) bezeichnet (Schneider et Steiner 2008). Dahingegen liegen bei symmetrischem Wachstum des Feten häufig Karyotyp-Anomalien, Nikotin- und Drogenabusus oder virale Infektionen vor (Galan et al 2002, Haram et al 2006). Zu einem späteren Zeitpunkt einsetzende äußere Störeinflüsse bewirken eine Blut-Umverteilung zu Gunsten der lebenswichtigen Organe wie Herz, Gehirn und Nebennieren. Der fetale Abdomenumfang wächst durch den Glykogenreserveverbrauch in der Leber nicht mehr symmetrisch, während der Kopf bei gesteigerter zerebraler Perfusion weiter wächst. Das typische asymmetrische Wachstum des IUGR-Feten ist die Folge (Schneider et Steiner 2008, Galan et al 2002).

Während der Schwangerschaft sinkt der periphere Gefäßwiderstand, und der arterielle Blutdruck nimmt sowohl systolisch als auch diastolisch um ca. 10 mmHg ab. Kompensatorisch steigt das Blutvolumen. Die Zunahme des Zentralenvenendrucks, die Abnahme des onkotischen Drucks und eine erhöhte Permeabilität der Gefäße führen zu leichten Ödemen. Ferner ist eine Proteinurie bis 300 mg/l im 24-Stunden-Sammelurin während einer Schwangerschaft physiologisch bedingt. Mit Blick auf das uterine Gefäßbett findet man eine arterielle und venöse Hypertrophie und Hyperplasie mit einer konsekutiven Erhöhung des uterinen Blutflusses von 50 ml/min in der 10. SSW bis auf einen Wert von 600 ml/min am Termin. Die orthologe Trophoblastinvasion bewirkt eine fibrinoide Degeneration im maternalen Gefäßbett (Gerretsen et al. 1981).

Im Gegensatz zur physiologisch verlaufenden Schwangerschaft steigt bei Patientinnen mit PE der Blutdruck an; die Herzauswurfleistung bleibt vergleichbar, und es kommt zu einer Hämokonzentration (Smith et al. 1995).

## 2.2 Trophoblastinvasion

Eine insuffiziente Trophoblastinvasion der Spiralarterien sowie die Dysfunktion des Endothels sind Schlüsselfaktoren für die Entwicklung der PE und IUGR. Bei physiologisch verlaufenden Schwangerschaften verlieren die Spiralarterien in ihrem myometrialen Segment ihre muskulären und elastischen Zellwandbestandteile. Dieser Prozess ist auf die endovaskuläre Einwanderung der Trophoblasten zurückzuführen und bewirkt eine Vervielfachung des Durchmessers der Arterien. Die orthologe Trophoblastinvasion bewirkt eine fibrinoide Degeneration im maternalen Gefäßbett (Gerretsen et al. 1981) mit einer adrenergen Denervation der uterinen Gefäße und einer Abnahme sympathischer Neurotransmitter (O'Shaughnessy et al. 1983). Diese Veränderungen gehen mit einer vor allem durch Prostacyclin vermittelten Vasodilatation und Hemmung der Thrombozytenaggregation einher (Walsh et al. 1985, Moncada et Vane 1979). Die Spiralarterien werden in ein vaskuläres Niederdrucksystem mit hohem Blutfluss umgewandelt. Das Resultat ist die deutliche Steigerung des Blutflusses, die die optimale Versorgung des Fetus gewährleistet (Dekker et Sibai 1998). In mehreren Studien wurde festgestellt, dass die morphologische Veränderung der Spiralarterien bei der Mehrheit der Frauen, die an IUGR bzw. PE erkranken, nicht stattfindet (Meekins et al. 1994, Redline et al. 1995).

Verschiedene Hypothesen wurden zu der Fragestellung, wie es zu einer insuffizienten Trophoblastinvasion kommt, aufgestellt. Beispielsweise beschrieb Zhou die Grundvoraussetzung einer adäquaten Trophoblastinvasion als eine Phänotypmodifizierung des Adhäsionsrezeptors durch die endovaskulären Zytotrophoblasten. Ziel der Transformation sei es, mit den endothelialen Zellen eine sogenannte Pseudovaskulogenese einzugehen (Zhou et al. 1997a). In einer separaten Studie konnte Zhou nachweisen, dass bei den Schwangerschaftserkrankungen diese Adaption ausbleibt. Sie schlussfolgerten, dass der Zytotrophoblast nicht in der Lage sei, diesen vaskulären Phänotyp zu mimen, und dadurch eine Hypoxie- / Ischämie-Situation in der Plazenta entstehe (Zhou et al. 1997b).

Die molekulare Regulation der frühen Trophoblastentwicklung sowie deren Störung wird heute nur in ersten Ansätzen verstanden. Auch in Tierversuchen konnten durch pharmakologische bzw. experimentelle Verminderung des Blutflusses fetale

Wachstumsretardierungen und PE-ähnliche Manifestationen provoziert werden (Buhimschi et al. 1995; Morris et al. 1998). Eine unzureichende Trophoblastinvasion bei Hypoxie wurde in vitro bewiesen, woraus sich die These ableiten ließ, dass die unzureichende Versorgung mit arteriellem uterinem Blut zur fehlerhaften Implantation des Zytotrophoblasten führe (Genbacev et al. 1997). Tierexperimente und In-vitro-Experimente zeigen einige molekulare Mechanismen und Stoffwechselkaskaden, die für die orthologe Trophoblastinvasion relevant sind und deren Alteration zur inadäquaten Plazentation mit Persistenz des Hochdrucksystems führen. Dazu zählt die möglicherweise durch Autoantikörper vermittelte Stimulation des AT-1 Rezeptors (Xia et al. 2002, Wallukat et al. 1999, Walther et al. 2005). Ebenso wird für die orthologe Trophoblastinvasion die fehlende *down*-Regulation von TGF- $\beta_3$  angeführt (Caniggia et al. 1999).

Durch Knock-out-Modelle werden im Tiermodell weitere Faktoren wie beispielsweise IGF 2 oder  $\alpha_2$ -adrenerge Rezeptoren identifiziert, deren Beeinflussung für die placentare Fehlentwicklung mit konsekutiver Perfusionsstörung verantwortlich sein kann (Philipp et al. 2002, Constancia et al. 2002). Ein weiterer Gegenstand von Untersuchungen ist die Fragestellung, inwieweit placentare Transkriptionsfaktoren wie Hash<sub>2</sub>, die durch Hypoxie induzierbar sind (Jiang et al. 2000) und deren Ausschalten im Tiermodell zu einer schweren placentaren Entwicklungsstörung führt (Guillemont et al. 1995), die Entstehung der Erkrankungen in vivo beeinflussen (Stepan et Farber 2004a).

Die gestörte Trophoblastinvasion führt zu einer Reduktion des uteroplacentaren Blutflusses in der Frühschwangerschaft, und die Persistenz der gestörten Hämodynamik kann dopplersonographisch im zweiten Trimenon erfasst werden. Aber nicht nur eine fehlerhafte Implantation der Trophoblasten, sondern auch morphologische Veränderungen des Endothels lassen sich bei den hier untersuchten Schwangerschaftserkrankungen nachweisen. Whitdrige Williams fand 1915 Intimaverletzungen der Spiralarterien und vermutete, dass ein Toxin Verursacher dieser Pathologie sei. De Wolf beschreibt, dass in den Basalmembranen wie auch in den myometrialen Segmenten der Spiralarterien von Frauen mit gestörter Trophoblastinvasion morphologische Veränderungen sichtbar werden, die als akute Atherose bezeichnet werden. Endothelverletzungen mit fokalem Abbruch der

Basalmembran, Thrombozytenablagerungen, fibrinoide Nekrosen und eine Akkumulation von Schaumzellen können dargestellt werden (De Wolf et al. 1975). Diese mikroskopischen Untersuchungen legen nahe, dass die endotheliale Unterbrechung das erste Indiz für die Entstehung der akuten Atherose sein könnte. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese Manifestationen nicht nur typisch für Mütter mit Hypertonus sind, sondern auch bei normotensiven Müttern gefunden wurden, die wachstumsretardierte Kinder zur Welt gebracht hatten (Sheppard et Bonnar 1976).

Jahrzehnte zuvor beschrieben schon Zeek und Assali einen Zusammenhang zwischen Atherose und Plazentarinfarkten. So wiesen Frauen mit einer PE zu über 80 % Plazentainfarkte auf, von denen wiederum 30 % auch Manifestationen einer Atherose zeigten (Zeek et Assali 1950). Eine andere Studie konnte darstellen, dass Plazentainfarkte häufig eine chronische Plazentainsuffizienz zur Folge hatten, woraus sich eine IUGR oder eine vorzeitige Plazentalösung entwickelte (Rath et al. 1994). Sowohl die fehlerhafte Implantation des Trophoblasten als auch die Atherose implizieren die Genese der von uns untersuchten Schwangerschaftserkrankungen. Eine mechanische Blockade durch die Atherose könnte eine Erklärung für die beeinträchtigte Trophoblastinvasion sein, da Anzeichen einer Atherosklerose bei normaler Invasion der Trophoblasten nicht gefunden wurden (Khong 1991).

### **2.3 Anti - Angiogene Faktoren und ihre Rolle in der Entstehung und Vorhersage der Präeklampsie**

Die neueren Theorien weisen daraufhin, dass die Präeklampsie mit einer Dysbalance von angiogenen Faktoren (*placental growth factor*, PlGF) und anti-angiogenen Faktoren (*soluble fms-like tyrosine kinase*, sFlt1; *soluble Endoglin*, sENG) einhergeht.

Karumanchi verwendete einen Micro-Array-Chip, um zu ermitteln, welche Gene in der präeklampsischen Plazenta vermehrt exprimiert werden. Dabei konzentrierte er sich auf Gene, deren Genprodukt löslich ist. Da die Präeklampsie historisch auch „Schwangerschaftsvergiftung“ genannt wurde, war die Löslichkeit ein Ansatz, der die Theorie des toxischen Geschehens im maternalen Kreislauf wieder belebte (Verloren et Dudenhausen 2009).

Untersuchungen auf molekularer Ebene konzentrierten sich auf sFlt1, ein lösliches, extrazelluläres Fragment des VEGF-1-Rezeptors (Lam et al. 2005, Levine et Karumanchi 2005, Tjoa et al. 2007). Dieses Peptid hat eine starke anti-angiogene Wirkung durch die Bindung des VEGF-Rezeptors an PlGF, wodurch es deren angiogene Wirkung blockiert. Indem man sFlt1 substituierte, konnte man bei einem In-vivo-Modell an Ratten Hypertonie, Proteinurie und Nierenläsionen hervorrufen (Maynard et al. 2003). Ein weiteres anti-angiogenes Protein, *soluble Endoglin* (sENG), ein lösliches Fragment des TGF- $\beta_3$ -Korezeptors Endoglin, konnte bei Substitution im Tiermodell dem HELLP-Syndrom ähnliche Symptome erzeugen (Venkatesha et al. 2006). In-vivo-Untersuchungen konnten nachweisen, dass bei Schwangeren mit Präeklampsie exzessiv erhöhte sFlt1-, aber verminderte PlGF-Plasmakonzentrationen vorlagen (Levine et al. 2004).

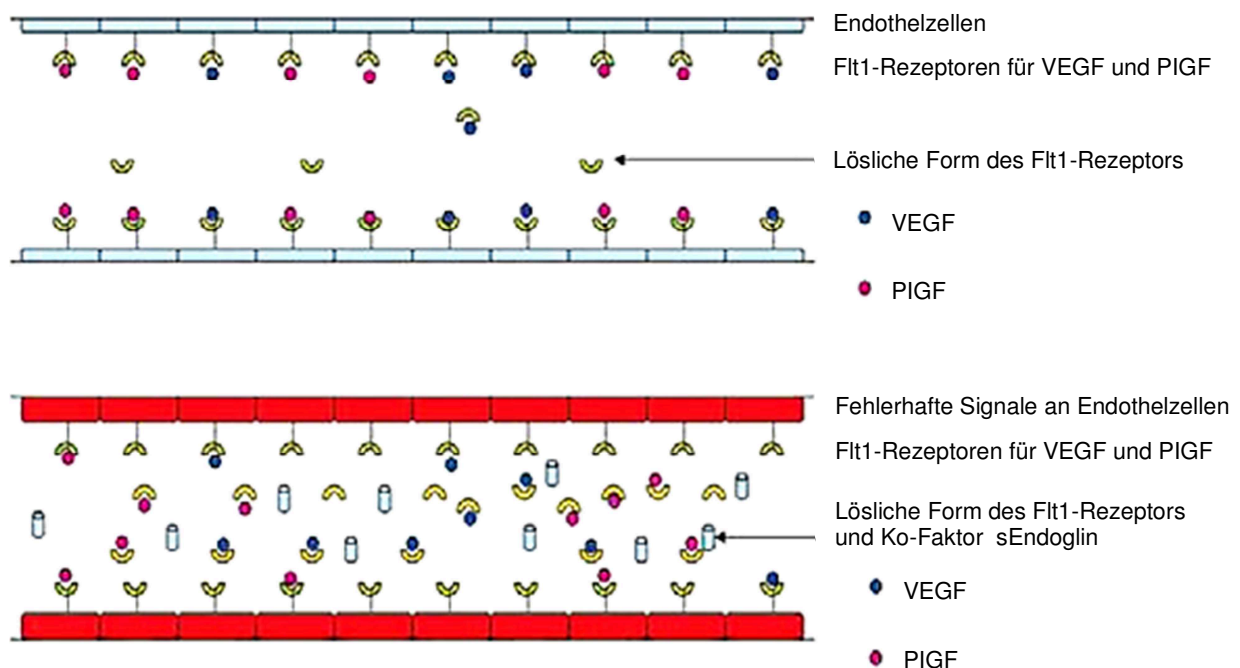


Abb. 2.1 Verlohren et Dudenhausen 2009, modifiziert nach Karumanchi

Im oberen Teil der Abbildung wird die physiologische Endothelsituation dargestellt, und im unteren Teil die PE-Situation am Endothel. In der physiologischen Situation wird der membranständige sFlt1-Rezeptor durch VEGF und PlGF aktiviert. Die Endothelsituation bei der PE wird durch erhöhte Mengen freien sFlt1 und erhöhten sENG bestimmt, die

miteinander interagieren und VEGF und PlGF binden. Damit sind weniger sFlt1-Rezeptoren aktiviert und die Funktion des Endothels beeinträchtigt (Verloren et Dudenhausen 2009). Anti-angiogene Faktoren scheinen bereits Wochen vor der klinischen Manifestation messbar zu sein und haben dazu noch eine hohe prädiktive Wertigkeit für das Auftreten einer Präeklampsie (Stepan et al. 2004b, Stepan et al. 2007). Stepan konnte in einem durch Dopplersonographie der uterinen Arterien ermittelten Risikokollektiv nachweisen, dass die sFlt1-Konzentration im Plasma Schwangerer des 2. Trimenons mit uteriner Perfusionsstörung, die schließlich eine Schwangerschaftskomplikation entwickeln, im Vergleich zu den Schwangeren, die trotz uteriner Perfusionsstörung einen unkomplizierten Schwangerschaftsverlauf boten, signifikant erhöht war (Stepan et al. 2004b). In einer weiteren Studie konnte Stepan's Arbeitsgruppe nachweisen, dass sich die Spezifität der Risikostratifizierung mittels Dopplersonographie durch die sFlt1-Konzentrationsbestimmung im Plasma um 27 % verbesserte. Besonders für die *Early-Onset*-Präeklampsie (vor der 34. SSW) ergab die Erhöhung der sFlt1-Konzentration eine Sensitivität von 83 %, eine Spezifität von 95 % und eine positive Vorhersage von 71 % (Stepan et al. 2007b). Lam hat daraus folgendes Modell der Präeklampsie skizziert: Genetische Prädisposition, Umweltfaktoren und immunologische Faktoren der Mutter führen zu einer fehlerhaften Plazentation. Daraus resultiert eine placentare Minderperfusion, die durch Ischämie und Hypoxämie die Expression der placentaren Faktoren wie sFlt1, PlGF, sENG und Angiotensin-1-Rezeptor-Autoantikörper triggert. Die Freisetzung dieser Faktoren in die maternale Zirkulation führt zu einer systemischen Reaktion des mütterlichen Organismus, einer systemischen vaskulären endothelialen Dysfunktion. Die Präeklampsie mit Hypertonus und Proteinurie ist somit resultierend.

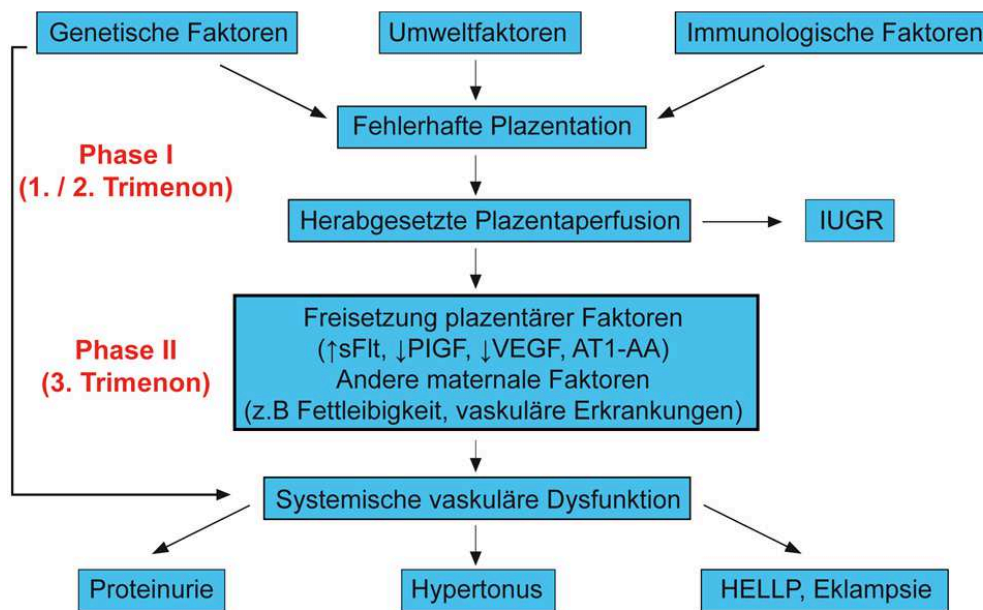


Abb. 2.2 Verlohren et Dudenhausen 2009, modifiziert nach Lam et al. 2005

## 2.4 Metabolische Veränderungen

Schon vor klinischen Anzeichen einer PE kann im Vergleich mit normotonen Schwangeren eine erhöhte Sensibilität gegenüber vasokonstriktorisch wirkenden Substanzen wie Vasopressin, Adrenalin, Noradrenalin und Angiotensin II nachgewiesen werden (Roberts et al. 1989). Ebenso wurden eine verminderte Reninsensibilität und eine erhöhte Endothelinkonzentration präeklampsischer Frauen nachgewiesen (Kamoi et al. 1990, Rubanyi et Polokoff 1994). Eine Störung dieses Prozesses vereint in der Frühphase eine reduzierte Prostacyclinproduktion (Walsh et al. 1985), eine diskontinuierliche Trophoblastausdehnung in den Spiralarterien (Robertson et Khong 1987) und eine pathologische Aufrechterhaltung der Vasomotorenaktivität (Gerretsen et al. 1981). Parallel zu diesen Störungen der frühen Hämodynamik laufen Veränderungen des Endothels ab. Diese umfassen die Veränderungen der Permeabilität, die Abnahme der lokalen Synthese von Prostacyclin, EDRF und C-Protein sowie eine Zunahme von Endothelin und PDGF (Radunovic et al. 1995). Die entstehende Hypoxie im Intervillousum führt zu einer weiteren Vasokonstriktion der Zottenarteriolen.



Die pathologische Abnahme der fetomaternalen Austauschfläche resultiert aus einer gestörten Formation der Zottenarteriolen als Ausdruck einer gestörten Angiogenese sowie einer Obliteration infolge von Mikrothrombembolien und sekundärer Vasokonstriktion.

## **2.5 Inflammation**

### **2.5.1 Funktion des neutrophilen Granulozyten**

Während inflammatorischer Prozesse kommt es zur Aktivierung von Neutrophilen Granulozyten. Dies schließt die Bindung und Transmigration der Granulozyten durch das Endothel mit ein und bedarf der Interaktion endothelialer Adhäsionsmoleküle mit Oberflächenrezeptoren der Neutrophilen (Clark et al. 1998).

Infektiös induzierte pathobiochemische Veränderungen können Reaktionen im Organismus hervorrufen, die über eine Aktivierung verschiedener Blutsysteme bis hin zur Verbrauchskoagulopathie und disseminierter intravasaler Gerinnung führen. Daneben können eine Verminderung von Komplementfaktoren, Immunglobulinen, Opsoninen und Proteinaseinhibitoren sowie eine Aktivierung des Kalikrein-Kinin-Systems auftreten. Deren Auslöser sind von Erregern freigesetzte Endotoxine, die über eine Schädigung der Zellmembranen die Freisetzung so genannter Entzündungsmediatoren, insbesondere lysosomaler Enzyme bewirken (Egger 2005).

### **2.5.2 Degranulationsprozess**

Der neutrophile Granulozyt besitzt zahlreiche zytoplasmatische Granula, die in primäre, sekundäre und tertiäre Granula unterteilt werden (Johnson et al. 1992). Der Neutrophile Granulozyt wird auch als polymorphonuklearer Leukozyt (*polymorphonuclear leucocyte*, PMN) bezeichnet. Die Granula enthalten Substanzen, die im Zusammenspiel mit den reaktiven Sauerstoffverbindungen für die Bakterizität des Granulozyten verantwortlich sind und dem Granulozyten einen Weg durch das extrazelluläre Gewebe bahnen. Sie verschmelzen im Rahmen der Aktivierung des Granulozyten mit der Zellmembran und geben ihre Inhalte nach außen und in eingestülpte Membranen (Phagosomen) ab (Lefell et Spitznagel 1974).

### **2.5.3 Granulainhaltsstoffe**

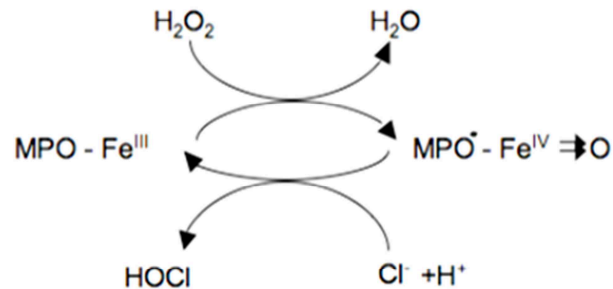
Die primären oder auch azurophilen Granula entsprechen dem primären Lysosomen, der nach der Phagozytose mit dem Phagosom verschmilzt und den Abbau des phagozytierten Materials gewährleistet (Johnson et al. 1992). Die primären (azurophilen) Granula enthalten Glycosidasen, Phosphatasen, Esterasen, Nucleotidasen, Phospholipase A<sub>2</sub>, Lysozym, Elastase, Cathepsine, Proteinase 3, Kollagenasen, Defensine, PBI-Proteine und die Myeloperoxidase. Sie werden primäre Granula genannt, weil sie sich bereits in den Promyelozyten befinden, aber auch in Monozyten und Makrophagen enthalten sind (Egger 2005).

Die bereits angesprochene Myeloperoxidase (MPO) ist ein Glykoprotein mit einer Hämgruppe, das mit 150kDA in großen Mengen im Granulozyten enthalten ist und so 5 % seines Trockengewichts ausmacht (Lau et Baldus 2006).

Die MPO wird entweder im Rahmen des Degranulationsprozesses nach außen abgegeben als auch innerhalb der neutrophilen Granulozyten in Phagosomen sezerniert. Mit dem über das Superoxidanion entstandene Wasserstoffperoxid kommt es in Kontakt (*Respiratory Burst*) und setzt es in Anwesenheit von Chloridionen in HCl um (Klebanoff 2005).

## Enzymreaktionen der Myeloperoxidase

I.



II.

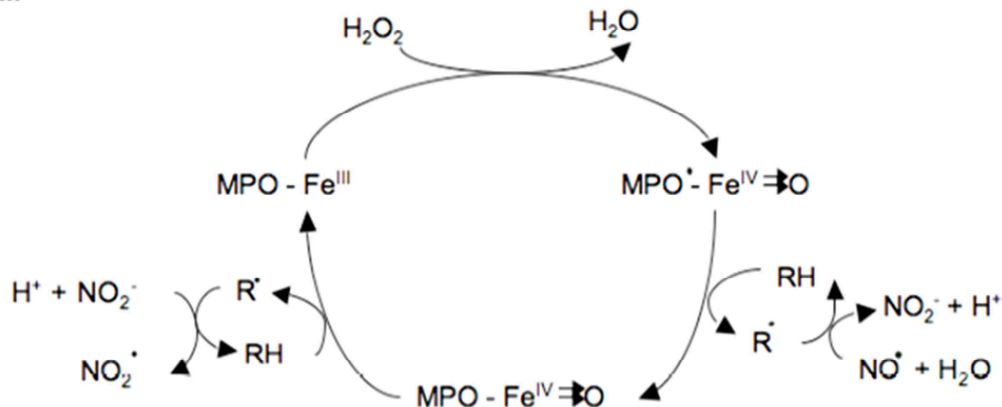


Abb. 2.3 MPO-katalysierte Reaktionen (Friedrich 2010 ).

- I. MPO reduziert  $\text{H}_2\text{O}_2$  und wird zum Enzymkomplex I (MPO-FeIV) oxidiert. Dieser wird zu MPO reduziert durch Oxidation von  $\text{Cl}^-$  zu HOCl.
- II. Der Enzymkomplex I kann sich auch in zwei Schritten durch Reaktion mit oxidierbaren physiologischen Substraten (RH) über den Enzymkomplex II (MPO -Fe IV) bilden. Wasserstoffabstraktionen stellen Radikalintermediate (R) her, die mit NO und  $\text{NO}_2^-$  reagieren, wobei  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{NO}_2$  entstehen.

MPO benötigt zur Katalyse Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) als Substrat und ein oxidierbares Kosubstrat. Das durch die NADPH-Oxidase produzierte Superoxid wird am häufigsten zu  $\text{H}_2\text{O}_2$ . MPO reduziert das  $\text{H}_2\text{O}_2$  zunächst zu Wasser und oxidiert dann entweder Halogenide, Pseudohalogenide oder Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) und auch Chlorid ( $\text{Cl}^-$ ). Da Chlorid die höchste physiologische Konzentration aufweist, stellt er den häufigsten Reaktionspartner dar. Chlorid wird oxidiert zu hypochloriger Säure (HOCl), einem

starken Oxidans und somit toxischen Molekül gegenüber Bakterien, Viren, Pilzen, Protozoen und Helminthen, gleichzeitig aber auch gegenüber körpereigenen Strukturen (Klebanoff 2005). Weitere reaktive Oxidantien können aus HOCl hervorgehen, wie beispielsweise molekulares Chlor. Phenolreste werden häufig mono – oder dichloriert. Ascorbat oder aromatische Aminosäuren werden dagegen durch MPO oxidiert und so zu Radikalintermediate, die weiter reagieren können. Andere Reaktionspartner der oxidierten MPO sind NO und NO<sub>2</sub>. NO wird so zu NO<sub>2</sub>, welches zu Stickstoffdioxid (NO<sub>2</sub>) weiter oxidiert. NO<sub>2</sub> reagiert dann als Radikal und nitrierendes Substrat (Friedrich 2010). Aris konnte 2009 zeigen, dass das durch die NADPH-Oxidase gebildete Superoxidanion - exemplarisch für die Leukozytenaktivität - ebenso eine Quelle für oxidativen Stress bei präeklampsischen Frauen darstellt (Aris et al. 2009).

Die humane Leukozyten-Elastase (PMN-Elastase, EC 3.4.21.37) hat ein Molekulargewicht von ca. 30.000 Dalton. Sie ist ein Glykoprotein und besteht aus drei bis vier Isoenzymen, die sich nur geringfügig in ihrem Arginin- und Zuckergehalt voneinander unterscheiden. Das Wirkoptimum dieser Serin-Protease liegt bei einem pH-Wert von 7,6 bis 8,6. In vitro löst die PMN-Elastase rasch natives Elastin, Proteoglykane und Fibrin auf. Ins Plasma freigesetzte PMN-Elastase wird durch ihre dort vorkommenden Inhibitoren  $\alpha_1$ - Antichymotrypsin und  $\alpha_2$ - Makroglobulin im Komplex gebunden. Unter bestimmten pathophysiologischen Bedingungen entwickelt die ins Plasma freigesetzte Leukozyten-Elastase ihre proteolytische Wirkung (Oremek et Schneider 1995).

Verschiedene Vorgänge werden hierfür diskutiert:

- 1.) Lokale Abnahme der Inhibitorenkonzentration in bestimmten Organen wie Lunge und Leber bei massiver Freisetzung der Proteinase
- 2.) Zeitabhängigkeit der Reaktion zwischen Inhibitoren und Enzym, sodass die Proteinase im Zeitraum zwischen Freisetzung ins Plasma und Inaktivierung durch Komplexbildung Plasmaproteine spalten kann
- 3.) Unvollständige Hemmung der Proteinase durch  $\alpha_2$ -M, wodurch es einigen Substraten noch ermöglicht wird, das aktive Zentrum der Proteinase zu erreichen (Sponfeldner 1994).

Myeloperoxidase (MPO, EC 1.11.1.7), eine durch Östrogen induzierbare Peroxidase und zugleich Marker für neutrophile Aktivität, produziert über das MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Chlorid-System oxidativ veränderte Proteine (Hammer et al. 2001). Mellembakken berichtete, dass es bei präeklampsischen Frauen zu einer signifikanten Steigerung an MPO im Plasma kommt (Mellembakken et al. 2001). Ebenso wurden erhöhte Konzentrationen an PMN-Elastase bei Patientinnen mit schwerer PE gemessen (Haeger et al. 1992). Haeger untersuchte in seiner In-vitro-Studie eine positive Korrelation zwischen Komplementfaktoren und PMN-Elastase zum Zeitpunkt der Entbindung. Er schlussfolgerte, dass ein aktiviertes Komplementsystem die Neutrophilen zur Ausschüttung von Entzündungsmediatoren anregt. Butterworth fand in der Dezipua präeklampsischer Frauen eine Erhöhung PMN-Elastase enthaltender Neutrophiler vor (Butterworth et al. 1991).

Eine erhöhte Aktivierung der Leukozyten wurde in der Schwangerschaft beobachtet. Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass die Expression der Entzündungsmediatoren bei Schwangeren mit PE im Vergleich zu gesunden Schwangeren signifikant erhöht ist. Es wird angenommen, dass die Aktivierung durch die von den Trophoblasten freigesetzten Zytokine verursacht wird. Auch die mehrfach beschriebene Endothelschädigung wurde als Verstärkung der Entzündungsreaktion beschrieben (Dekker et al. 1998, Taylor et al. 1998, Walker 1998, Aris et al. 2009). Die endotheliale Dysfunktion erklärt sich durch die Veränderung verschiedener Parameter im Kreislauf präeklampsischer Frauen (O’Riordan et al. 2003). So zeigen präeklampsische Schwangere erhöhte Spiegel an Zelladhäsionsmolekülen wie PCAM-1, VCAM-1, ICAM-1 und E-Selectin (Horstman et al. 2004, Portelinha et al. 2008). Gesteigerte Konzentrationen des Zelladhäsionsmoleküls ICAM-1 konnten schon Wochen vor der klinischen Manifestation der Präeklampsie gemessen werden. Demzufolge kann ICAM-1 ein prädiktiver Marker für die Vorhersage der Erkrankung sein (Krauss et al. 1998, Hanisch et al. 2004). Rousseau stellte bereits in der 20. SSW erhöhte Fibrinogenspiegel im Kreislauf von Schwangeren fest, die später eine PE entwickelten (Rousseau 2009). Andere Koagulationsfaktoren der Gerinnungskaskade, wie der Von-Willebrandt-Faktor (Faktor VIII), Thrombomodulin und die Thrombozytenaktivität wurden bei PE erhöht nachgewiesen (Molvarec et al. 2009). Die PE kann also als Ungleichgewicht zwischen den antikoagulierenden und prokoagulierenden Faktoren im

weiblichen Organismus als Folge einer maternalen Entzündungsreaktion bezeichnet werden (Siddiqui et al. 2010a).

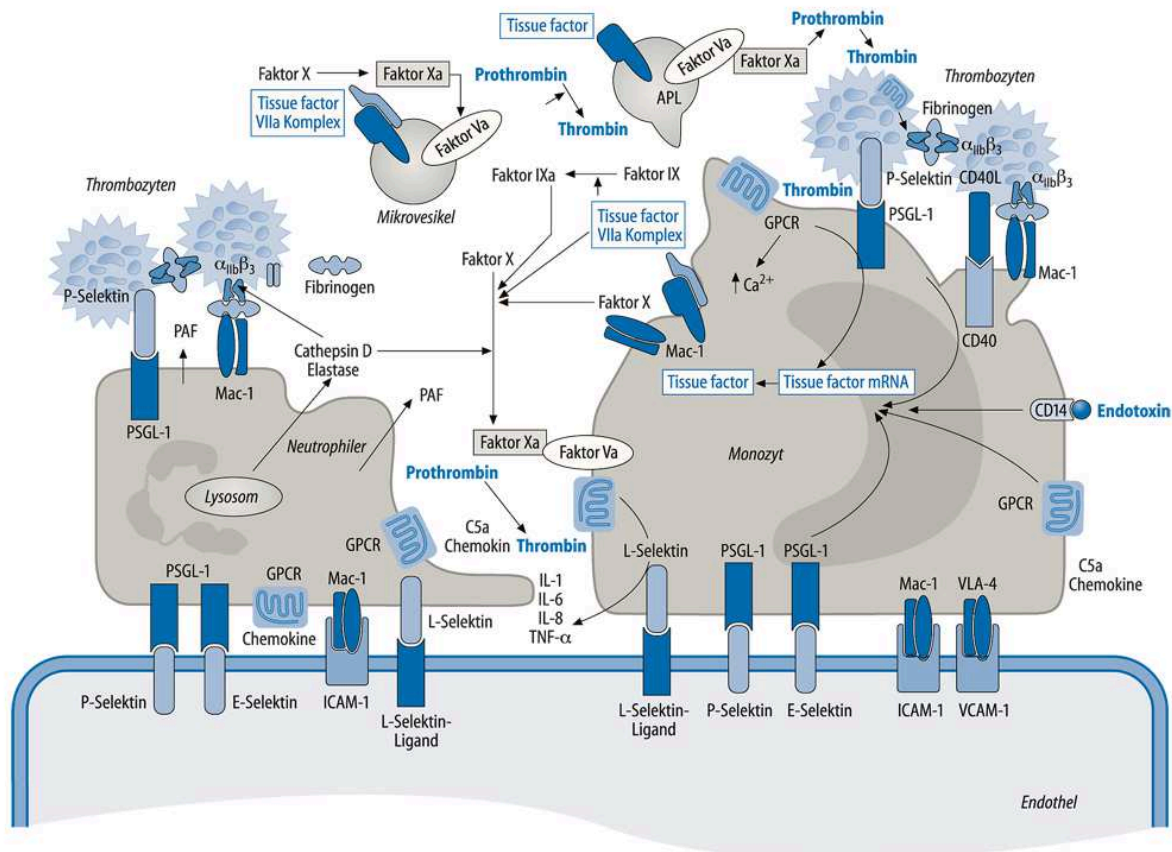


Abb. 2.4 Interaktion von Leukozyten mit dem Endothel APL(Amionc-Phospholipid),GPCR (G-Protein Coupled Receptor), ICAM 1(Intercellular Cell Adhesion Molecule 1, PSG-1(P-Selectin Glycoprotein Ligand -1), VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) (Weber, Monozyten und Leukozyten, Hämostaseologie 2010).

Leukozyten werden nach Adhäsionen am aktivierten Endothel durch Chemokine zur Freisetzung lysosomaler Enzyme (Kathepsin-G, Elastase) stimuliert. PAF (Platelet Activating Factor), Tissue Factor und Prostaglandine aktivieren Thrombozyten, welche konsekutiv die Gerinnungskaskade und über CD40c- weitere Leukozyten aktivieren.

## 2.6 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress wird als relevanter pathophysiologischer Faktor für die PE und IUGR diskutiert. Er wird als Ungleichgewicht zwischen freien Radikalen (*reactive oxygen species*) und der Kapazität des protektiven Antioxidantiensystems verstanden. Zugleich ist er ein wichtiger Promotor für die Dysfunktion des mütterlichen Gefäßbettes und der endothelialen Schädigung (Hubel et al. 1999, Chappell et al. 1999, Chappell et al. 2002, Bowen et al. 2001, Siddiqui et al. 2010a, Roberts et Hubel 2009, Redman et Sargent 2009). Hypoxie löst Entzündungsreaktion aus, Zytokine werden darauf folgend freigesetzt und Leukozyten aktiviert. Am Ende dieser Kaskade steht oxidativer Stress (Benyo et al. 1997, Benyo et al. 2001, Conrad et Benyo 1997, Hayashi et al. 2004, Pijnenborg et al. 1998, Taylor et al. 1998, Tsukimori et al. 1993, Walker 1998, Wang et Walsh 1996).

### 2.6.1 Allgemeine oxidative und antioxidative Mechanismen

Freie Radikale sind hochreaktive Verbindungen, die ungebundene Elektronen enthalten und das Bestreben haben, andere Moleküle zu binden, um einen stabileren Zustand zu erreichen. Bei einer Überproduktion von reaktiven freien Radikalen (ROS) kommt es bei nicht ausreichender antioxidativer Verteidigung zu Gewebe- und Zellschäden. Verschiedene Enzyme und kleinere Moleküle schützen vor den ROS; sie werden als Antioxidantien bezeichnet (Gitto et al 2002).

Das antioxidative System des Plasmas besteht aus einer Reihe unterschiedlicher Komponenten wie beispielsweise Vitamin C und E, Harnsäure, Proteinen und Enzymen wie Superoxiddismutase (SOD), Katalase (KAT) und Glutathionperoxidase (GPx). Die intrazellulären antioxidativen Enzyme verteidigen den Körper durch die Eliminierung von freien Radikalen:

SOD fügt dem Superoxidanion ( $O_2^-$ ) ein Elektron hinzu und stellt Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) und Sauerstoff ( $O_2$ ) her. Sowohl KAT und als auch GPx binden Glutathion, um Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) zu reduzieren und Wasser ( $H_2O$ ) herzustellen (Siddiqui et al. 2010a). Vitamin E, ein fettlösliches Vitamin, agiert als Antioxidans im Plasma, indem es an Membranen der Zelle und an Membranen der intrazellulären Organellen bindet und damit die Lipidperoxidation des Plasmas verhindert. Weitere Antioxidantien des Plasmas

sind Transferrin, Laktoferrin, Ceruloplasmin, Albumin, Harnsäure und Haptoglobin, die mit Metallionen wie Kupfer und Eisen Chelatkomplexe bilden, um die Metallionen an der Katalyse der freien Radikalbildung in der Zelle zu hindern (Padayatty et al 2003, Siddiqui et al. 2010a). Freies Eisen stimuliert die Bildung von Lipidperoxiden (Halliwell et Gutteridge 1990).

### **2.6.2 Oxidativer Stress in der Schwangerschaft**

Die Gestation ist durch eine Vielzahl an physiologischen Systemveränderungen des gesamten maternalen Organismus charakterisiert, die einen erhöhten Energie- und Sauerstoffbedarf zur Folge haben. Zu Beginn der Schwangerschaft ist die Plazentasituation hypoxisch, wandelt sich dann aber mit zunehmender Reife durch die Trophoblastinvasion in eine sauerstoffreiche Umgebung. Eine normal verlaufende Schwangerschaft geht deshalb im Vergleich zur nichtschwangeren Situation immer mit einer erhöhten Produktion an Lipidperoxiden und oxidativem Stress einher (Kaur et al 2008). Es verwundert nicht, dass die meisten antioxidativen Enzyme wie SOD, KAT, GPx, Glutathionreduktase, Glutathion-S-Transferase und Glucose-6-Phosphatdehydrogenase in der Plazenta präsent sind. Sie bieten den antioxidativen Schutz gegen die Lipidperoxidation für die normale Schwangerschaft (Gitto et al 2002). Parameter wie beispielsweise Glutathion, Glutathionperoxidase mit dem für die Katalyse essentiellen Selen als Antioxidans, aber auch Thiolgruppen sind weitere Komponenten des oxidativen Systems.

Bei normal verlaufender Schwangerschaft bleibt das Niveau des Glutathions in den Erythrozyten bis zum Ende des 2. Trimenons gleich, steigt dann aber ab der 35. SSW an (Zachara et al. 1993). Im letzten Trimenon reduziert sich im Plasma die Thiolgruppe. Als mögliche Ursache werden die erhöhte antioxidative Belastung und die Hämodilution in der Schwangerschaft diskutiert (Wisdom et al. 1991, Quanungo et Mukherjea 2000). Aus der Bestimmung der GPx-Aktivität in Kombination mit Selen zog Perona Rückschlüsse auf den oxidativen Status (Perona et al. 1979, Walsh et Wang 1993b). Selen, ein essentieller Bestandteil der GPx, korreliert positiv mit der Aktivität der Glutathionperoxidase. Diesbezüglich wurden den normalen Schwangerschaftsverlauf beschreibende Studien vorgenommen, die bis zum Schwangerschaftsende stetig



fallende Enzymaktivitäten der GPx nachwiesen (Zachara et al. 1993, Behne et Wolters 1979, Watson et al. 1997). In anderen Untersuchungen wurden ansteigende Aktivitäten der Glutathionperoxidase im Schwangerschaftsverlauf gemessen (Uotila et al. 1991, Rudolph et Wong 1978).

Übereinstimmend verzeichnen die einschlägigen Studien in der Schwangerschaft verminderte Enzymaktivitäten im Vergleich zur nichtschwangeren Kontrollgruppe. Wang konnte im Vergleich zu einer nichtschwangeren Kontrollgruppe einen Anstieg von Lipidperoxiden und Vitamin E messen. Außerdem wurde eine erhöhte erythrozytäre Glutathionkonzentration am Ende der Schwangerschaft gemessen. Im Verlauf einer normalen Schwangerschaft findet eine kompensatorische Erhöhung bestimmter antioxidativer Systeme (Glutathion, Vitamin E) statt (Wang et al. 1991a, Uotila et al. 1991). In der Plazenta wurden erniedrigte Vitamin-E-Spiegel im Schwangerschaftsverlauf festgestellt, die aber durch Substitution von Vitamin E wieder ausgeglichen werden konnten (Chappell et al 1999).

### **2.6.3 PE / IUGR und oxidativer Stress**

Im Vergleich zur normalen Schwangerschaft ist die Präeklampsie durch erhöhten oxidativen Stress und verminderten antioxidativen Schutz gekennzeichnet (Patil et al. 2009). So wurden im plazentaren Gewebe und im maternalen Kreislauf signifikant verminderte Antioxidantienspiegel und eine erhöhte Produktionsrate an Lipidperoxiden gemessen (Serdar und Gur 2003, Orhan et al. 2003). Daneben wurden bei präeklampsischen Patientinnen im Vergleich zu gesunden Schwangeren veränderte Plasmaspiegel der Vitamine A, C und E sowie Glutathion, Eisenbindungskapazität und SOD-Aktivität beobachtet (Fiore et Capasso 2008). Die Mehrzahl aller Studien berichtet über eine Plasmaspiegelabnahme der oben genannten Vitamine bei PE (Jendryczko et Tomala 1995, Kharb 2000d, Mikhail et al. 1994, Serdar et Gur 2003, Wang et al. 1991b, Chappell et al. 1999, Chappell et al. 2002a; Siddiqui et al. 2010a).

Zusterzeel beschreibt hingegen eine Zunahme der Vitamin-E-Konzentration und interpretiert dies als Kompensationsmechanismus gegen den vorhandenen oxidativen Stress (Zusterzeel et al. 2002). Wie Redman 1991 konstatiert hat, muss die Plazenta als Verursacher des mütterlichen Endothelschadens angesehen werden, da auch bei einer

Molenschwangerschaft eine Präeklampsie entstehen kann (Redman et al. 1991, Page 1939, Hubel 1999). Walsh vermutete 1993, dass GPx vermindert in Plazenten von Schwangeren vorhanden ist und so die notwendige Eliminierung von Wasserstoffperoxidprodukten nicht geleistet werden kann (Walsh et Wang 1993b). Die erkrankten Frauen weisen im Allgemeinen sowohl niedrigere Aktivitäten der Enzyme SOD und GPx als auch geringere Vitamin-E-Konzentrationen auf (Yoder et al 2009).

#### **2.6.4 Die Lipidperoxidation und ihre Folgen**

Im Verlauf der Lipidperoxidation entstehen wesentliche Biomarker des oxidativen Stresses. Einige Autoren vermuten, dass plazentares und deziduales Gewebe verstärkt Lipidperoxide hervorbringen (Hubel 1999, Staff et al. 1999a, Wang et al. 1991a).

Verschiedene Produkte der Peroxidation werden als wichtige Ursachen für die Störung der maternalen arteriellen Endothelfunktion betrachtet (Hubel 1998). Vasoaktive Stoffe wie Thromboxan  $A_2$  ( $TXA_2$ ) und Prostacyclin  $F_{1\alpha}$  ( $PGI_2$ ) spiegeln den Zustand des Gleichgewichts zwischen oxidativem Stress und antioxidativen Abwehrmechanismen wieder. Sie sind von der Produktion der Lipidperoxide abhängig (Wang et al 1991a, Hubel et al. 1989, Hubel 1999). Thromboxan  $A_2$  und Prostacyclin  $F_{1\alpha}$  zeigen konträre Verläufe.  $TXA_2$  fällt gegen Ende der Schwangerschaft;  $PGF_{1\alpha}$  steigt an. Es entsteht ein Übergewicht an  $PGF_{1\alpha}$  mit konsekutiver Vasodilatation (Wang et al. 1991a). Morris konnte zeigen, dass Produkte der Lipidperoxidation wie 8-iso- $PGF_{2\alpha}$ , Lipidhydroperoxid und Malondialdehyd in der Schwangerschaft allgemein erhöht sind (Morris et al. 1998). So stimulieren die durch Sauerstoffradikale entstehenden Lipidperoxide die Cyclooxygenase, Prostacycline und Thromboxane zu produzieren (Walsh et al. 1993a). Durch die erhöhte Aktivität der Cyclooxygenase werden mehr freie Radikale produziert (Kukreja et al. 1986).

Die  $PGI_2$ -Synthetase wird durch Lipidperoxide gehemmt (Warso et Lands 1983). Das Gleichgewicht zwischen  $PGI_2$  und  $TXA_2$  ist zu Gunsten des Vasokonstriktors  $TXA_2$ ; maternale Hypertonie und die Zunahme der Thrombozytenaggregation sind die Folgen. Durch die vermehrte Bildung von Lipidperoxiden bei oxidativem Stress wird die  $PGI_2$ -Synthetase gehemmt. Folge ist die gesteigerte Produktion von  $PGF_{2\alpha}$  bei gleichzeitigem Überschuss des thrombozytär gebildeten  $TXA_2$ . Die erhöhten Konzentrationen an

PGF<sub>1</sub> $\alpha$  und TXA<sub>2</sub> sind mit einer gesteigerten Produktion von vasokonstriktorisches Substanzen und Zytokinen durch die Trophoblastzellen verbunden. Folgen sind einerseits eine Minderperfusion der Plazenta mit entsprechender Hypoxie und andererseits die Freisetzung von Zytokinen und die dadurch induzierte Entzündungsreaktion im mütterlichen Organismus, die ebenfalls zu oxidativem Stress führt (Benyo et al. 1997, Many et al. 2000, Wang et Walsh 1996, Siddiqui et al. 2010a).

### **2.6.5 Malondialdehyd**

Bei Patientinnen mit Präeklampsie war eine erhöhte Plasmaspiegelkonzentration an Malondialdehyd messbar (Aydin et al. 2004, Kharb 2000b, Kumar et Das 2000, Madazli et al. 2002, Poranen et al. 1996, Serdar et al. 2003, Var et al. 2003). Zwei Publikationen berichten von unverändertem MDA-Plasmaspiegel (Bowen et al. 2001, Rajmakers et al. 2004). In der Erythrozytenmembran und Plazenta präeklampsischer Schwangerer wurde zugleich eine signifikante Erhöhung der MDA deutlich (Carreiras et al. 2002, Matteo et al. 1998, Davijani 2005).

### **2.6.6 Isoprostane**

Nachdem Barden im Urin und Plasma präeklampsischer Patientinnen erhöhte Konzentrationen an 8-Isoprostanen als Marker für eine erhöhte Lipidperoxidation messen konnte, stellte Staff die Hypothese auf, dass 8-Iso-Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  die Matrix-Metalloproteinase-Aktivität herabsetzt und so indirekt die inadäquate Trophoblastinvasion verursacht (Barden et al. 1996, Staff et al. 2000). Staff wies im deciduellen Gewebe präeklampsischer Frauen erhöhte Konzentrationen an Lipidperoxiden und freiem 8-Iso-Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  nach (1999b).

### 2.6.7 Stickstoffmonoxid (NO) wird zu Nitritperoxid

Die durch den oxidativen Stress erzeugten freien Radikale beeinträchtigen die Funktionen des vaskulären Endothels und verändern die Regulation des arteriellen Blutdrucks und der lokalen Organdurchblutung. ROS verstärken die Vasokonstriktion, indem sie den endothelialen Vasodilatator NO deaktivieren und so direkt die arterielle glatte Muskulatur der Gefäße stimulieren (Davidge 1998; Heinle 1999). Bei reduzierter Superoxid-Dismutase-Aktivität (SOD) reagiert freies NO mit dem Superoxidanion zu Nitritperoxid, welches wiederum die Produktion von Lipidperoxiden induziert (Sankaralingam et al. 2006). Die in der Präeklampsie beobachtete periphere Vasokonstriktion mit Anstieg des arteriellen Blutdrucks und die verschlechterte Perfusion der Plazenta und der mütterlichen Organe können daher ohne weiteres mit der Wirkung des oxidativen Stresses erklärt werden.

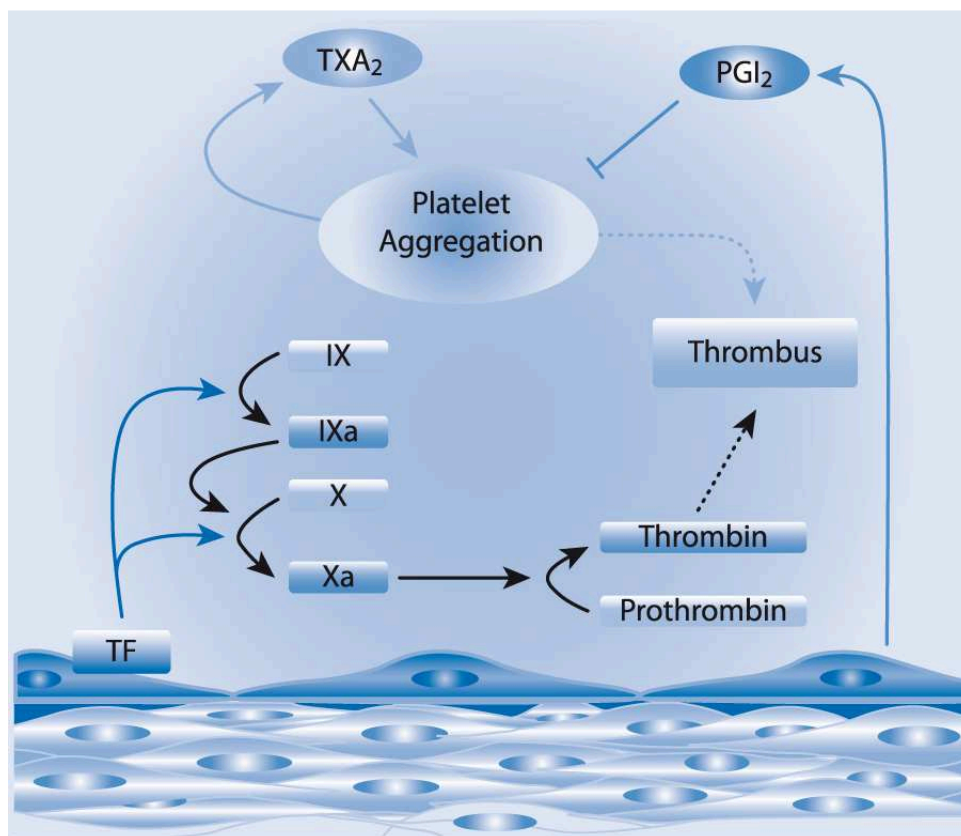


Abb. 2.5 Steffel et Lüscher, Endothelzellen, Hämostaseologie 2010.

### **2.6.8 Harnsäure**

Als mögliche Causa für oxidativen Stress wird unter anderem ein erhöhter Harnsäurespiegel präeklaptischer Schwangerer diskutiert. Eine gestörte Nierenfunktion könnte diese Konzentrationssteigerung erklären (Dunlop et Davison 1977, Redman et al. 1976, Redman et Bonnar 1978). Andere Arbeitsgruppen favorisieren als Erklärung die erhöhte Xanthinoxidase-Aktivität bei Plazentahypoxie. Bei ausreichender antioxidativer Kapazität reagiert die Xanthinoxidase mit NAD zu Harnsäure und NADPH, im Gegensatz zur hypoxischen Situation, in der sie Harnsäure und Superoxidanionen hervorbringt (Hubel 1999, Many et al. 1996, Nemeth et al. 2002).

### **2.6.9 Totale Antioxidative Kapazität**

Eine erhöhte Totale Antioxidative Kapazität bei präeklaptischen Frauen im Vergleich zu einer unauffälligen Kontrollgruppe wurde gehäuft nachgewiesen (Kharb 2000c, Poranen et al. 1996, Uotila et al. 1994). TAK wurde in der Arbeit von Kharb nicht direkt bestimmt, sondern als Summe der Harnsäure-, Vitamin C-, Vitamin E- und Thiolgruppen-Konzentration. Zwei Arbeitsgruppen zeigen eine Abnahme der antioxidativen Kapazität bei eklaptischen Patientinnen (Jendryczko et Tomala 1995, Wang et al. 1991).

Ness und Roberts stellten 1996 ein Zwei-Stadien-Modell für die Pathogenese der Präeklampsie vor. Hierbei wird für die Pathogenese der Präeklampsie einerseits von einer schlecht durchbluteten Plazenta ausgegangen, andererseits von verschiedenen mütterlichen Faktoren, die u. a. in genetischer Disposition, Ethnizität, Alter, Multigravidität, sozialen Umständen, Ernährung und Lebensweise bestehen. Die darin bedingten Konstellationen führten zu oxidativem Stress, der in einem weiteren Stadium die manifeste Präeklampsie hervorruft (Ness et Roberts 1996, Roberts et Hubel 1999, Davijani 2005).

Während ein Zusammenhang zwischen Präeklampsie und oxidativem Stress in der Forschung mittlerweile unstrittig ist, gehen die Meinungen zu Ursache und Wirkung auseinander. Die Fragestellung, ob oxidativer Stress die Symptome der Präeklampsie hervorruft, oder ob durch die plazentare Zytokinfreisetzung der Mutter eine Entzündung mit sekundärem und die Erkrankung verstärkendem oxidativem Stress ausgelöst wird,

ist daher Teil unserer Studie. Durch die Messung der Leukozytenenzyme einerseits und die Bestimmung der totalen antioxidativen Kapazität andererseits im 2. Trimenon vor Manifestation der Erkrankungen bietet diese Studie eine gute Möglichkeit, auf diese Fragestellung einzugehen.

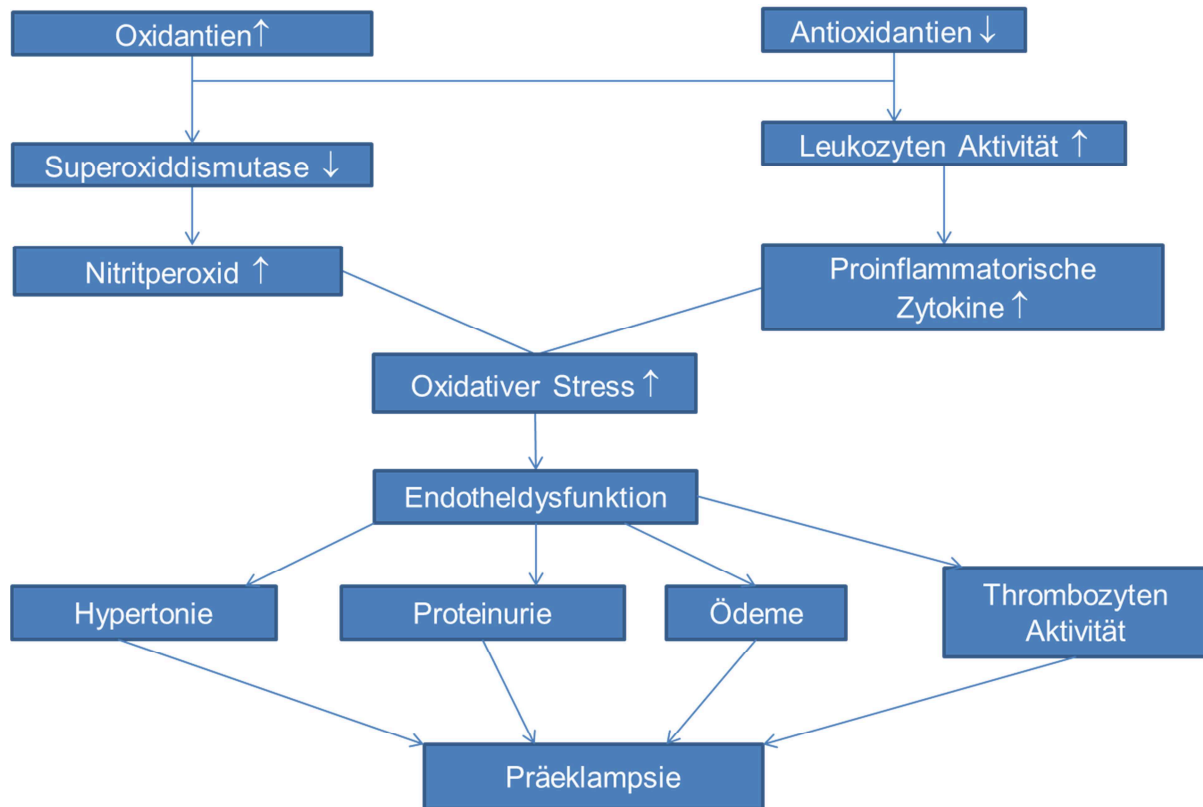


Abb. 2.6 Modifiziert nach Siddiqui et al. 2010a.

## 2.7 Dopplersonographie

### 2.7.1 Exkurs: Physikalische und technische Grundlagen

Das der Dopplersonographie zugrunde liegende physikalische Prinzip, der Doppler-Effekt, wurde von Christian Doppler (1803–1853) im Jahre 1842 erstmals in seiner Publikation „Über das farbige Licht der Doppelsterne“ beschrieben (Doppler 1907). In der dopplersonographischen Perfusionsmessung werden Schallwellen von den korpuskularen Bestandteilen des Blutes, beispielsweise Erythrozyten, frequenzverschoben reflektiert. Aus dieser Frequenzverschiebung, auch

Dopplershiftfrequenz genannt, lässt sich die Blutflussgeschwindigkeit bemessen, die nach folgender Formel berechnet werden kann:  $v = (Fd \times c) / F0 \times 2 \times \cos \alpha$

- $v$  = Geschwindigkeit der Blutsäule(m/s)
- $Fd$  = Frequenzdifferenz zwischen emittierten und reflektierten Ultraschall (Hz) („Dopplershift“)
- $c$  = Konstante für Schallgeschwindigkeit im durchschallten Medium (m/s, im Mittel 1540m/s)
- $F0$  = emittierte Ultraschallfrequenz (Hz)
- $\alpha$  = Winkel zwischen emittiertem Ultraschallstrahl und Gefäßachse (Schelling 2008).

Venöse Gefäße sind durch eine laminare Strömung gekennzeichnet, d.h. die Geschwindigkeit des Blutes nimmt zur Gefäßwand hin in parabolischer Form ab. Für arterielle Gefäße und Gefäßverzweigungen hingegen sind pulsatile bzw. turbulente Strömungen charakteristisch. Mit Hilfe der Spektralanalysetechnik können die verschiedenen Geschwindigkeiten erfasst werden, indem alle Einzelgeschwindigkeiten punktförmig registriert werden. In der entstehenden komplexen Kurvenform ist die Zeit auf die x-Achse und die Frequenzverschiebung auf die y-Achse abgetragen (Schaffer et Steiner 2008).

Die in der Praxis angewandte Technik der *continuous-wave*-Dopplersonographie (cw-Doppler) gestattet eine qualitative Beschreibung des Blutstroms. Die Dopplersonde arbeitet dabei getrennt voneinander, jedoch gleichzeitig und kontinuierlich als Sender und Empfänger. Abhängig von Frequenzerhöhung und -minderung verarbeitet der cw-Doppler die Signale direktional in positive Spektren zum Schallkopf hin und negative Spektren vom Schallkopf weg. Es ist nicht möglich, zwischen verschiedenen sich bewegendenden Strukturen in verschiedenen Eindringtiefen zu differenzieren. Aufgrund der fehlenden Tiefensenselektivität und der schwierigen Anwendung bei mehreren Gefäßen findet der cw-Doppler bei der Messung von Gefäßen mit hohen Geschwindigkeiten Anwendung (fetale Echokardiographie) (Schelling 2008).

Mittels der *pulsed-wave*-Dopplersonographie (pw-Doppler) ist eine sowohl qualitative als auch quantitative Messung des Blutstroms möglich. Dieselbe Kristallgruppe wird zum

Senden und Empfangen der Signale genutzt. Der Schallkopf sendet pulsatil und funktioniert in der Sendepause als Empfänger. Durch die Eliminierung von Signalen, die den Schallkopf zu früh bzw. zu spät erreichen, kann tiefenselektiv zwischen verschiedenen Strukturen unterschieden werden. Durch Änderung der Empfangszeiten kann auch die räumliche Ausdehnung des Echofensters variiert und unterschiedlichen Gefäßquerschnitten angepasst werden. Bei zusätzlichem Einsatz des B-Bildes ist es somit möglich, die Blutströmung aus dem gesamten Querschnitt des interessierenden Gefäßes zu registrieren (Schelling 2008).

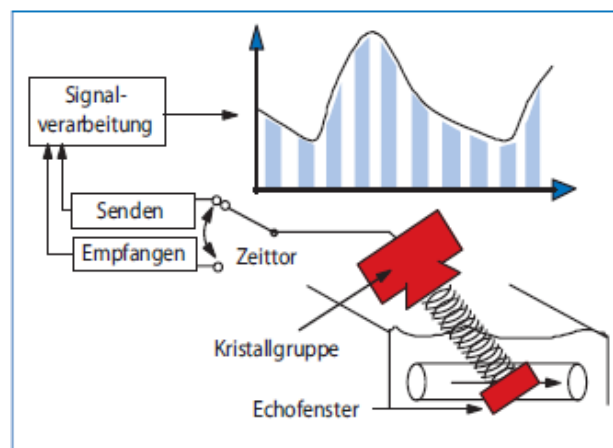


Abb. 2.7 Signalverarbeitung beim pw-Doppler: Durch das elektronische Zeittorfenster werden die empfangenen Signale anhand der Laufgeschwindigkeit einem bestimmten Tiefenbereich zugeordnet. Es entsteht ein Echofenster, das die tiefenselektive Registrierung des Blutflusses erlaubt (Schelling 2008).

Die *Pulse Repetition Frequency* (PRF) definiert die Zahl der pro Sekunde ausgesandten Schallsignale und ist umso niedriger, je größer der Abstand zwischen Schallquelle und Messobjekt ist. Die PRF ist dabei der Tiefe des zu messenden Gefäßes und der zu registrierenden Blutflussgeschwindigkeit anzupassen.

Der pw-Doppler wird mit dem B-Bild kombiniert, wodurch der Messbezirk (*Sample Volume*) lokalisiert und eingestellt werden kann. Der eingesetzte mechanische Schallkopf dient dabei wechselseitig dem Aufbau des Schnittbildes und dem Betrieb der Sonde (Schelling 2008).



### 2.7.2 Bewertung des dopplersonographisch gemessenen Blutflusses

Mittels Dopplersonographie wird der gemessene Blutfluss in Form einer wellenförmigen der Herzaktion entsprechenden Blutflusskurve dargestellt. Der systolische Anstieg wird allgemein als Ausdruck der Herzkontraktion interpretiert. Gefäßwandcompliance und periphere Reflexion des ausgeworfenen Blutvolumens bedingen den systolischen Abfall. Der diastolische Blutfluss reflektiert den peripheren Widerstand im nachgeschalteten Gefäßbett. Um eine qualitative und von Größen wie Gefäßdurchmesser, fetalem Gewicht und Winkel zum gemessenen Gefäß unabhängige Aussage zu ermöglichen, wurden in der klinischen Praxis verschiedene Indizes eingeführt (Fendel et Sohn 1989, Schneider et Loos 1989, Schaffer et Schneider 2008).

In der klinischen Praxis etablierte Indizes zur qualitativen und quantitativen Analyse der Dopplerkurven	
Arterielle Gefäße	Venöse Gefäße
A/B-Ratio <sup>a</sup> Pulsatilitätsindex (PI) = $A - B / f$ (mean) Resistance-Index (RI) = $A - B / A$	TAMX = time-averaged maximum velocity PVIV = peak velocity index for veins = $S - a / D^b$ PIV = pulsatility index for veins = $S - a / TAMX$
<sup>a</sup> A maximale diastolische Frequenzverschiebung, B maximale diastolische Frequenzverschiebung. <sup>b</sup> S systolische Geschwindigkeit, D diastolische Geschwindigkeit, a A-Welle.	

Abb. 2.8 Stepan 2007a(Dopplersonographie).

Die *A-B-Ratio* ist hierbei die einfachste die Pulsatilität wiedergebende Form, die das Verhältnis des systolischen Maximums (A) zum enddiastolischen Maximum (B) widerspiegelt (Stuart et al 1980).

Der *Resistenzindex RI* errechnet sich aus dem Quotienten  $RI = (A - B) / A$  (Pourcelot 1974).

Die mittlere innerhalb eines Zyklus' gemessene Geschwindigkeit ( $f$  mean) findet in den *Pulsatilitätsindex PI* Eingang, der nach der Gleichung  $PI = (A - B) / (f \text{ mean})$  ermittelt wird (Gosling et al. 1971). Die höhere Variabilität des PI beeinflusst die Reproduzierbarkeit, reflektiert aber andererseits z.T. klinisch bedeutsame diastolische

Veränderungen (Käsemann et Görlitz 1988, Robel et al. 1991). Der Pulsatilitätsindex enthält von den genannten Indizes rechnerisch die meisten Informationen, wird aber in seiner Aussagekraft bei fehlendem diastolischem Fluss eingeschränkt. Als weiteres prognostisches Kriterium wurde die Beachtung einer postsystolischen Inzisur, des sogenannten *notching* eingeführt (Adamson et al. 1989, Harrington et al. 1991, Thaler et al 1992, Fleischer et al. 1986). *Notching* ist ein Zeichen persistierender Reflexion von Pulswellen, das physiologisch zu Beginn der Schwangerschaft auftritt; zwischen der 20. und 24. SSW ist es nur noch in der Hälfte der Fälle darstellbar. In der ungestörten Schwangerschaft verschwindet die Inzisur mit der Aufweitung der Spiralarterien danach völlig (Hasenöhl 2008).

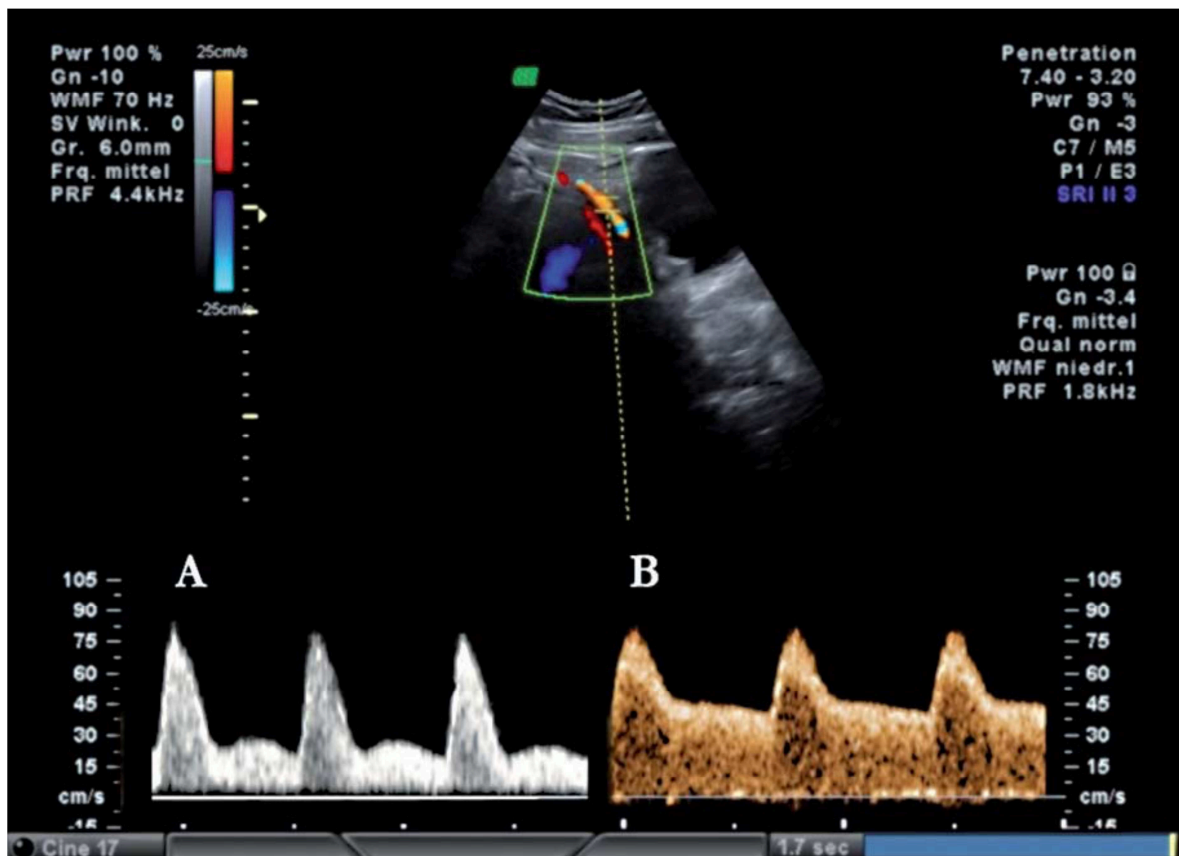
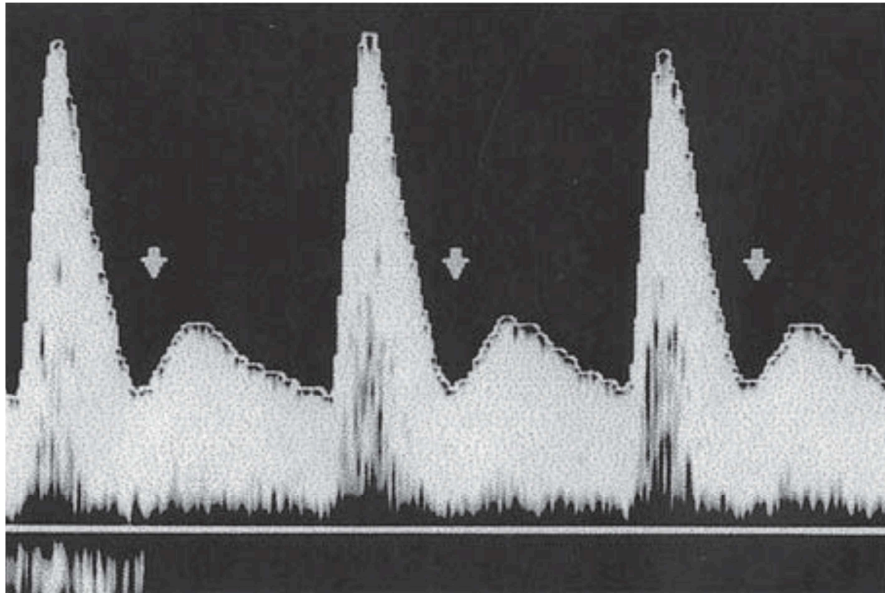


Abb. 2.9 Normale Kurvenverläufe der Arteria uterina (A). Der Verlauf bis zur 20. SSW mit postsystolischem notch und niedrigem diastolischem Fluss (B). Der Verlauf nach der 24. SSW bis zum Termin mit relativ erhöhtem enddiastolischem Fluss. Im Vergleich zu fetalen Gefäßen sind in der Arteria uterina die absolute Geschwindigkeit höher und der Anteil der Diastole am Herzzyklus länger (Hasenöhl 2008).



*Abb. 2.10 Pathologisches Dopplersonogramm der A. uterina im 3. Trimenon mit deutlicher Reduktion der systolischen Frequenzen und die Inzisur (notch, siehe Pfeil; Steiner 2008)*

### **2.7.3 Die uteroplazentare Perfusion in der normalen Schwangerschaft**

Aufgesucht wird die A. uterina, indem man den Schallkopf in der Inguinalgegend parallel zur Längsachse der Patientin aufsetzt. Zunächst verfolgt man die A. iliaca externa vom Abgang aus der A. iliaca communis ca. 5 cm nach kaudal, anschließend kippt man den Schallkopf leicht nach medial. Die A. uterina wird nun von dorsokaudal nach ventrokraniel ziehend sichtbar. Knapp oberhalb der A. iliaca externa wird das Dopplergate mit einem Dopplerfenster von ca. 10mm positioniert, wobei der Schallwinkel meistens 30° bis 45° beträgt (Schaffer et Steiner 2008).

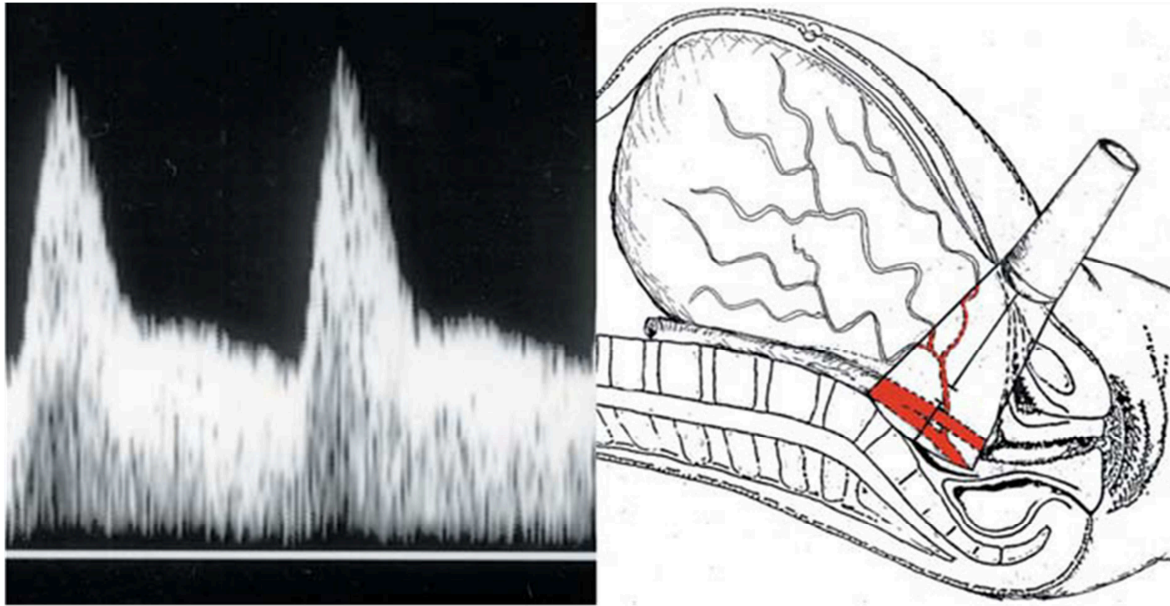


Abb. 2.11 Technik der Blutflussmessung (Schaffer und Steiner 2008).

Der Insonationswinkel (Winkel zwischen Schallstrahl und Gefäßachse) sollte maximal  $60^\circ$  betragen, da in der Berechnung der Formel für die Stromgeschwindigkeit der  $\cos \alpha$  (Kosinus des Winkels zwischen emittiertem Schallstrahl und Reflektorbewegung, also der Gefäßachse) enthalten ist. Bei einem Winkel von  $90^\circ$  ergibt sich ein  $\cos \alpha$  von null, womit die Strömungsgeschwindigkeit ebenfalls null betragen würde (Schelling 2008).

Das Dopplerprofil der Aa. uterinae ist durch einen geringgradigen und kurzen systolischen Anstieg sowie einen flachen Abfall zur Diastole hin gekennzeichnet. Die Phasen des Herzzyklus sind dabei nicht scharf voneinander zu trennen. Charakteristisch für das Dopplerprofil der uterinen Gefäße ist die markant hohe diastolische Frequenzverschiebung, die 40 bis 70 % der systolischen Frequenz erreicht (Campbell et al. 1983, Fendel et Sohn 1989, Hasenöhl 2008). Diese schwache Pulsatilität reflektiert den geringen Widerstand im nachgeschalteten plazentaren Gefäßbett, wobei der fast konstante Blutfluss eine kontinuierliche Versorgung des Feten mit Sauerstoff gewährleistet (Fendel et Sohn 1989).

In der Arteria uterina findet im Laufe der frühen Schwangerschaft durch die Trophoblastinvasion ein Abbau der Muskelschicht statt, was zu einer Widerstandsverringerung und – wie bereits beschrieben – zu einer Erhöhung des enddiastolischen Flusses führt. Sämtliche Indizes ändern sich somit während des

Fortgangs der Schwangerschaft. Daher können die gemessenen Werte nur entsprechend den Normalbefunden des jeweiligen Gestationsalters beurteilt werden. Im ersten Trimenon ist der Widerstand hoch, es resultiert ein pulsatile Flussmuster. Die Flussgeschwindigkeit der Gefäße nimmt kontinuierlich zu, da auch das Flussvolumen im Laufe der Schwangerschaft um das Zehnfache ansteigt. Der Widerstand nimmt im uterinen Gefäßbett ebenfalls im ersten Trimenon rasch ab und sinkt dann durch die Trophoblastinvasion der Spiralarterien mit Abbau der endomuskulären Anteile bis zur 20. SSW stetig. Danach sinken die Widerstände nur noch gering. Ab dem dritten Trimenon bietet die A. uterina somit nur noch ein schwaches pulsatile Flussmuster (Hasenöhr 2008).

#### ***2.7.4 Uteroplazentare Perfusionsdiagnostik bei Schwangerschaften mit PE oder IUGR***

Da eine hämodynamische Insuffizienz zu einer dystrophen Entwicklung des Feten führen kann, ist es naheliegend, das Problem der intrauterinen Wachstumsretardierung mittels dopplersonographischer Perfusionsmessung zu untersuchen. Bereits 1983 wies Campbell auf ein vermehrtes Auftreten von Fällen mit intrauteriner Wachstumsretardierung bei gestörter Perfusion der Aa. arcuatae hin. Seitdem hat eine Vielzahl von Autoren den Zusammenhang zwischen pathologischen Dopplerprofilen uteroplazentarer und fetaler Gefäße mit der intrauterinen Wachstumsretardierung untersucht (Erskine et Ritchie 1985, Fleischer et al. 1985, Rochelson et al. 1987, Schulman 1987, Baschat et al. 2000, Haram et al. 2006, Miller et al. 2008, Cnossen et al 2008).

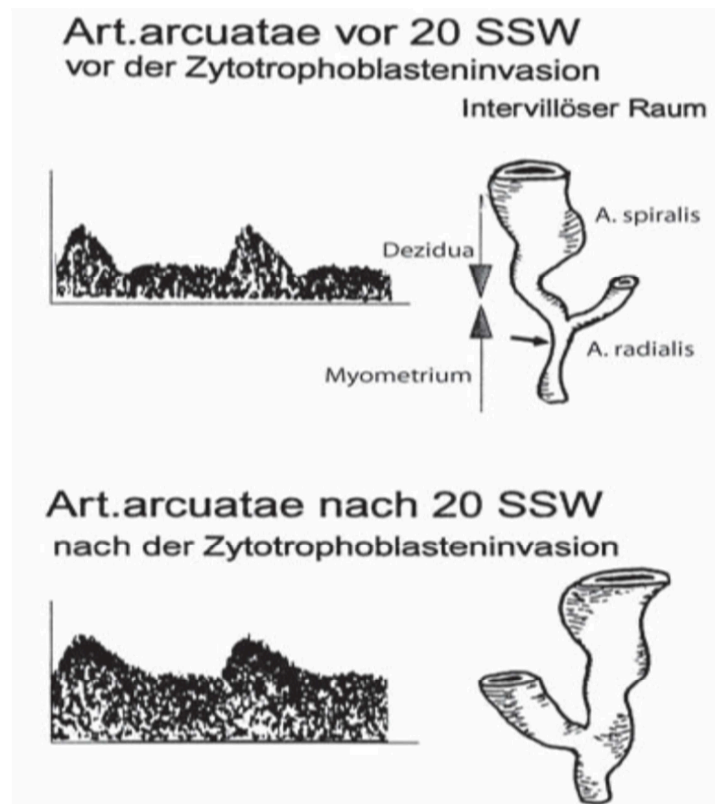


Abb. 2.12 Veränderungen der Dopplersonogramme der uteroplazentaren Gefäße in Abhängigkeit von den physiologischen Veränderungen (Steiner 2008).

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein SGA-Fetus geboren wird, ist bei einem pathologischen Dopplerprofil der maternalen oder fetalen Gefäße deutlich erhöht (Anyagbunam et al. 1991, Arudini et al. 1987, Haram et al. 2006, Steiner et Schneider 2008). Robel fand bei fetaler Hypotrophie signifikant erhöhte RI- und PI-Werte der uterinen Gefäße. Die uteroplazentare Perfusion war zu 30 % betroffen (Robel et al. 1994). Die Sensitivität des Dopplers, eine IUGR vorherzusagen, steigt mit gleichzeitig auftretender schwangerschaftsinduzierter Hypertonie (Schneider et Steiner 2008).

Gegen das Einführen der Dopplersonographie als allgemeines Screening spricht allerdings, dass die positive Vorhersage beispielsweise für eine IUGR nur bei 10 % liegt. Die Dopplersonographie als Screening im *low-risk*-Kollektiv würde durch zu viele falsch positive Befunde Mutter und Geburtshelfer beunruhigen (Schneider et Steiner 2008). Bats konnte an einem Hochrisikokollektiv demonstrieren, dass das Fehlen des bilateralen uterinen *notch* zwischen der 12. und 15. SSW eine nachfolgende IUGR-

Entwicklung zu 92 % ausschließt (Bats et al. 2004). Ein RI der uterinen Gefäße im Normbereich ohne postsystolische Inzisur kann mit beinahe 100-prozentiger Sicherheit eine der hier beschriebenen Schwangerschaftskomplikationen ausschließen. Dabei gilt der Grundsatz, dass eine Plazentationsstörung umso sicherer ausgeschlossen werden kann, je später im Schwangerschaftsverlauf eine unauffällige Untersuchung erfolgt. Unbestritten ist in der Forschung, dass die Abgrenzung des genetisch kleinen und nicht gefährdeten Feten von einem mangelernährten und somit gefährdeten IUGR-Feten mittels Dopplersonographie am frühzeitigsten und am zuverlässigsten möglich ist (Schneider et Steiner 2008).

Campbell befand schon 1986, dass die Dopplersonographie die einzige Methode sei, ein Risikokollektiv für die Schwangerschaftserkrankungen PE und IUGR zu ermitteln (Campbell et al. 1986). Schulman und Rochelson beschrieben für die uterinen Gefäße eine Korrelation zwischen pathologischen Strömungsverhältnissen und dem Auftreten einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie (Schulman 1987, Rochelson et al. 1987). Aquilina zeigte 2000, dass der gemittelte erhöhte RI mit bds. *notching* mit einer Spezifität von 80% und einer Sensitivität von 90% den besten prädiktiven Marker für die Vorhersage einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie darstellt (Aquilina et al 2000). In der Zwischenzeit sind die Aussagen konkreter, aber dennoch unterstreichen sie, dass die Dopplersonographie für die Risikoeinschätzung elementar bleibt. Cnossen konstatiert, dass die Dopplersonographie der A. uterina die Präeklampsie als mütterliche Folge einer gestörten Plazentation zuverlässiger voraussagt als die fetale Wachstumsretardierung. Besonders ein erhöhter Pulsatilitätsindex mit *notch* ist Cnossen zufolge im zweiten Trimenon am besten geeignet, die Präeklampsie sowohl im *high-risk*-Kollektiv als auch im *low-risk*-Kollektiv vorauszusagen. Für die schwere Präeklampsie ist ein erhöhter PI oder ein beidseitiger *notch* entscheidend. Die schwere IUGR in einem *low-risk*-Kollektiv lässt sich am besten durch den erhöhten PI allein oder kombiniert mit *notch* zur Prädiktion heranziehen. Im *high-risk*-Kollektiv ist der Resistenzindex RI wegweisend (Cnossen et al 2008).



## 3 Material und Methoden

### 3.1 Patientinnen

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive Kohortenstudie mit zwei Gruppen im gleichen Schwangerschaftsalter. Die Untersuchungen erfolgten im Zeitraum von Oktober 2001 bis Juni 2002 an der Klinik für Frauenheilkunde der Universität Leipzig.

In der Universitätsfrauenklinik Leipzig bietet Schwangeren, die eine Pränataldiagnostik im zweiten Trimenon in Anspruch nehmen, eine Perfusionsdiagnostik der uterinen Gefäße an. Alle Frauen, deren Daten in diesem Zusammenhang erfasst wurden, erklärten sich einverstanden, an der vorliegenden Studie teilzunehmen.

Es lagen nur Einlingsschwangerschaften vor. Zum Zeitpunkt der Untersuchung (zwischen der 18. und 24. Schwangerschaftswoche) waren die Schwangeren gesund.

Ausschlusskriterien waren:

- präexistente hypertensive Erkrankungen,
- ein vorzeitiger Blasensprung,
- vorzeitige Wehentätigkeit,
- Nikotinabusus,
- bakterielle Infektionserkrankungen,
- fetale Defekte und Wachstumsretardierungen.

Das Vorliegen einer pathologischen uterinen Perfusion wurde dokumentiert. Das fetale Wachstum war normal, es gab keine offensichtlichen fetalen Defekte.

Unsere Studie umfasste 50 Schwangere, davon 20 mit einer normalen uterinen Perfusion (gemittelter PI: 0.86) und 30 Schwangere mit einer pathologischen uterinen Perfusion (gemittelter PI: 1.66). Der Ausgang von 27 Schwangerschaften mit pathologischer uteriner Perfusion und von 8 Schwangerschaften aus der Kontrollgruppe wurde verfolgt. 11 Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion entwickelten eine Präeklampsie, IUGR oder auch beide Erkrankungen (klinische Daten in Tabelle 2).



Das durchschnittliche Schwangerschaftsalter in der Kontrollgruppe betrug zur Geburt 39 Wochen; das durchschnittliche Geburtsgewicht lag bei 3.705 g. Im Vergleich dazu betrug das durchschnittliche Schwangerschaftsalter in der Gruppe mit pathologischer uteriner Perfusion zur Entbindung 37 Wochen, und das durchschnittliche Geburtsgewicht lag bei 2.660 g.

Die Präeklampsie wurde gemäß der Richtlinien der internationalen Gesellschaft für Studien über Bluthochdruck in der Schwangerschaft als eine schwangerschaftsinduzierte Hypertonie mit Proteinurie definiert, die erstmalig nach der 20. Schwangerschaftswoche, in der Wehenphase oder im Wochenbett auftritt. Gemäß dieser Richtlinien wird die präeklampsische Hypertonie definiert als ein einmaliger diastolischer Blutdruck von 110 mm Hg zu einem beliebigen Zeitpunkt oder von 90 mm Hg bei zwei aufeinander folgenden diastolischen Blutdruckmessungen in einem mindestens vierstündigen Abstand.

Eine signifikante Proteinurie liegt ab einem Wert von  $\geq 300$  mg Gesamteiweiß im 24-Stunden-Sammelurin vor, oder, wenn nicht verfügbar, bei einem über Dipstikmethode in mindestens vierstündigem Abstand aufeinanderfolgend ermittelten Wert von mindestens 1+ Proteinurie.

IUGR wird in dieser Studie als ein Geburtsgewicht definiert, das unterhalb der 5. Perzentile des für die Universitätsfrauenklinik Leipzig eigenen Referenzkollektivs liegt.

Nach der ersten Doppleruntersuchung wurde venöses Blut in ein 10 ml EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) enthaltendes Röhrchen abgenommen.

Anschließend wurde das Blutplasma bei 4.000 Umdrehungen pro Minute zehn Minuten lang in der Zentrifuge separiert und bei - 80 °C konventionell gefroren.

Bei einer Patientin wurden PMN-Elastase und Myeloperoxidase zu folgenden Zeitpunkten bestimmt:

- bei Feststellung der pathologischen uterinen Perfusion in der 21. SSW,
- bei Feststellung erster Symptome einer Präeklampsie in der 27. SSW,
- zum Zeitpunkt des Vollbildes einer PE in der 28. SSW mit anschließendem Kaiserschnitt (Fall A).

Beide Enzymwerte wurden außerdem bei einer Patientin mit pathologischer uteriner Perfusion bestimmt, die eine ernste IUGR entwickelte; die Blutentnahme erfolgte hier in der 21. SSW sowie in der 32. SSW (Fall B).

### 3.2 Doppler

Unter der Verwendung eines LOGIQ 500 (GE, Solingen, Deutschland, mechanischer Schallkopf: 3.5-Megahertz *linear transducer*) erfolgte die dopplersonographische Messung der uteroplazentaren Perfusion. Der Schallkopf wurde entweder auf dem rechten oder linken unteren abdominellen Quadranten angelegt. Mit Hilfe des Fardopplers wurde die *Arteria uterina* an der Stelle aufgesucht, wo sie die *Arteria iliaca externa* kreuzt. Die Doppleruntersuchungen wurden von Professor H. Stepan oder Professor R. Farber vorgenommen.

Ein Pulsationsdoppler wurde benutzt, um den Geschwindigkeitsfluss in Form einer Wellenkurve darzustellen. Mit einem Insonationswinkel von  $\leq 60^\circ$  konnten Wellenformen dargestellt und damit – wie oben beschrieben – der Pulsatilitätsindex sowie das Vorliegen eines *notch* dokumentiert werden. Anschließend wurde der gleiche Vorgang auf der gegenüberliegenden Seite wiederholt. Das Blutströmungsprofil der *A. uterina* wurde anhand des Pulsatilitätsindex (PI) nach Gosling bewertet und aus drei aufeinanderfolgend gemessenen Hertz-Werten berechnet. Als pathologisch wurde die Perfusion der Arteriae gewertet, wenn bilateral ein *notch* vorlag bzw. wenn der gemittelte Pulsatilitätsindex (PI) beider *Aa. uterinae* oberhalb der 90. Perzentile eines Referenzkollektivs der Universitätsfrauenklinik Leipzig angesiedelt war.

### 3.3 MPO-ELISA

Die quantitative Erfassung der Myeloperoxidase-Konzentration wurde unter Verwendung eines hochsensitiven *Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay* (ELISA; Inter-Assay-Variation <7 %, Intra-Assay-Variation <4 %) im mütterlichen Plasma bestimmt (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany).

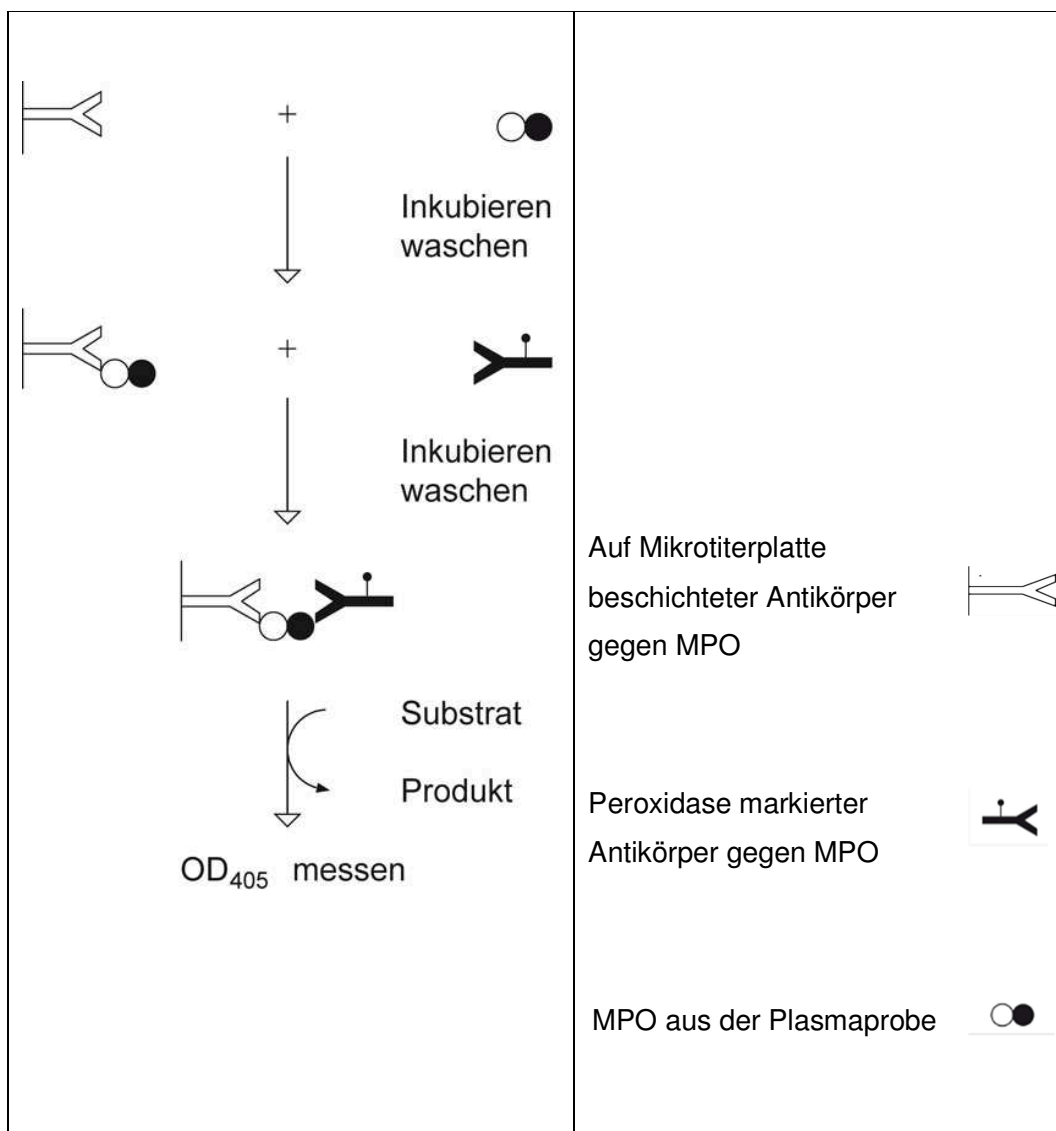


Abb. 3.1 Testprinzip des MPO-Immunoassays.

### **3.3.1 Prinzip der MPO-Assay-Bestimmung**

Der MPO-Assay-Bestimmung liegt die Antigen-Antikörper-Reaktion zugrunde, das sogenannte ELISA-Prinzip. Das zu untersuchende Plasma wird in Kunststoffröhrchen gegeben, deren Innenseite mit einem monoklonalen Antikörper gegen MPO beschichtet ist. Die Quantifizierung der gebundenen MPO erfolgt nach jeweiligem Waschvorgang durch einen mit Peroxidase markierten Kaninchen-Antikörper, der auf das Tetramethylbenzidinsubstrat (TMB-Substrat) reagiert. Nach Zugabe einer Stopplösung wechselt die Farbe von blau nach gelb. Die photometrisch bestimmte Farbentwicklung ist proportional zur angegebenen Analytmenge. Nach Bestimmung der Extinktion durch ein Photometer bei einer Wellenlänge von 405 nm wird aus den Extinktionen der Standards eine Standard-Eichkurve angelegt, aus der anschließend die Konzentrationen der einzelnen Proben ermittelt werden.

### **3.3.2 Durchführung der MPO-Assay-Bestimmung**

Zunächst wurde die Mikrotiterplatte mehrmals mit einem Waschpuffer vorgewaschen. Anschließend pipettierte ich 100 µl mit Aqua dest. rekonstituierter Standards, die aus Humanserum hergestellt werden und MPO-Konzentrationen im Wert von 0 – 3,6 – 11,33 und 100 ng/ml enthalten, in die ersten sechs vertikalen Vertiefungen der Mikrotiterplatte. Daneben wurde jeweils eine Doppelbestimmung pipettiert. In die siebente Vertiefung wurde ein Kontrollserum gegeben. Die restlichen Vertiefungen wurden mit der gleichen Menge an Plasma aus den zentrifugierten Proben gefüllt, die mit einem Puffer 1:5 verdünnt worden waren. Nach Zugabe der Standards, Kontrolle und Proben inkubierte die Platte für eine Stunde bei Raumtemperatur unter Schütteln. Darauf folgte eine mehrmalige Waschung der Platte mit Waschpuffer, die ich dann mit 100 µl Peroxidase-markierter Antikörper beschickte und wie zu Beginn inkubierte. Nach einer Stunde erfolgte erneut eine fünfmalige Waschung; anschließend wurden 100 µl TMB-Substrat in die Höhlung pipettiert. Nach zehnmütiger Inkubation wurde eine blaue Farbe sichtbar, die nach Zugabe von 50 µl einer aus Schwefelsäure bestehenden Stopplösung in eine gelbe Farbe umschlug, deren Farbintensität mittels ELISA-Reader in Form der Extinktion gemessen wurde.

### 3.3.3 Auswertung der MPO-Assay-Bestimmung

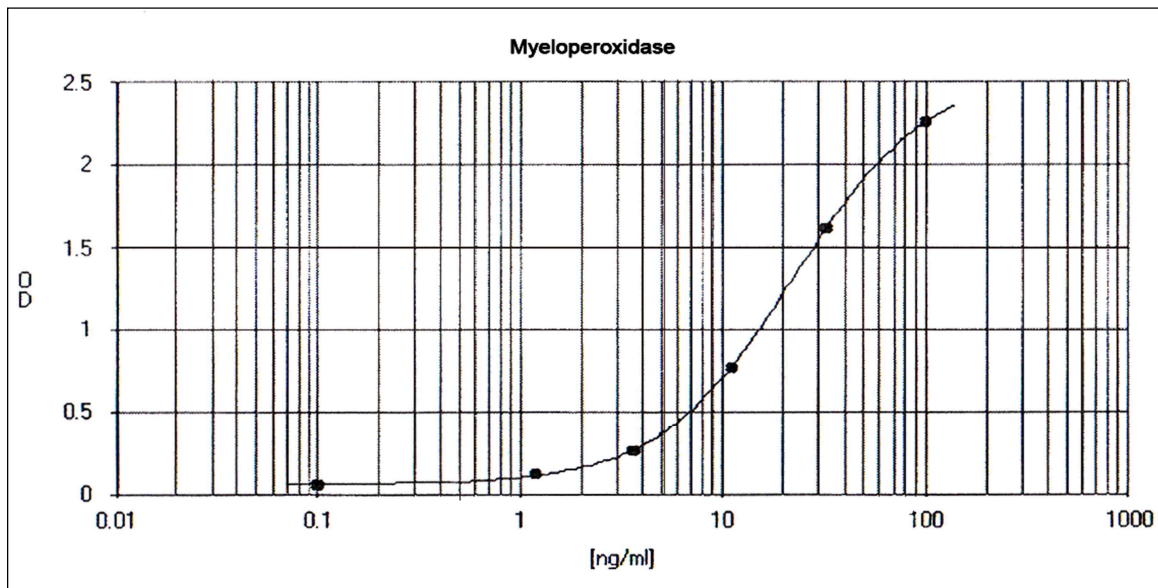


Abb. 3.2 Arbeitsanleitung/Manual Myeloperoxidase Immundiagnostik Bensheim

Anhand der für die Standards ermittelten Extinktionswerte wurde eine Eichkurve erstellt, und unter Berücksichtigung der Verdünnung wurden die MPO-Konzentrationen der Proben errechnet.

### 3.4 PMN-Elastase-Assay-Bestimmung

Die Messung der *polimorphonuclearen Elastase* (PMN) im mütterlichen Plasma erfolgte mittels eines hochsensitiven ELISA (Inter-Assay-Variation < 8 %, Intra-Assay-Variation < 5 %; Immundiagnostik AG, Bensheim, Deutschland).

#### 3.4.1 Prinzip der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung

Das Prinzip des PMN-ELISA ist dem zuvor für die MPO beschriebenen Verfahren ähnlich und beruht ebenfalls auf der Antigen-Antikörper-Reaktion. Der monoklonale Antikörper, mit dem die Mikrotiterplatte beschichtet wird, ist ein immobilisierter Schafs-PMN-Elastase-Antikörper. Diesem wird ein PMN-Elastase-Antikörper hinzugefügt, der sowohl die mit  $\alpha$ 1-Antitrypsin in Komplexform gebundene als auch die freie Elastase bindet.

Anschließend erfolgte die Quantifizierung mittels eines mit Maus-IgG-peroxidasemarkierten Antikörper. Die gebundene Peroxidase-Menge ist demzufolge proportional zur PMN-Elastase-Konzentration im Plasma. Zuletzt wird der Probe Tetramethylbenzidin (TMB) zugesetzt, dessen Beigabe eine blaue Verbindung entstehen lässt, die mit einer schwefelsäurehaltigen Lösung gestoppt wird. Die optische Dichte (OD) der letztlich gelben Farbe wird per Photometer bei 405 nm registriert

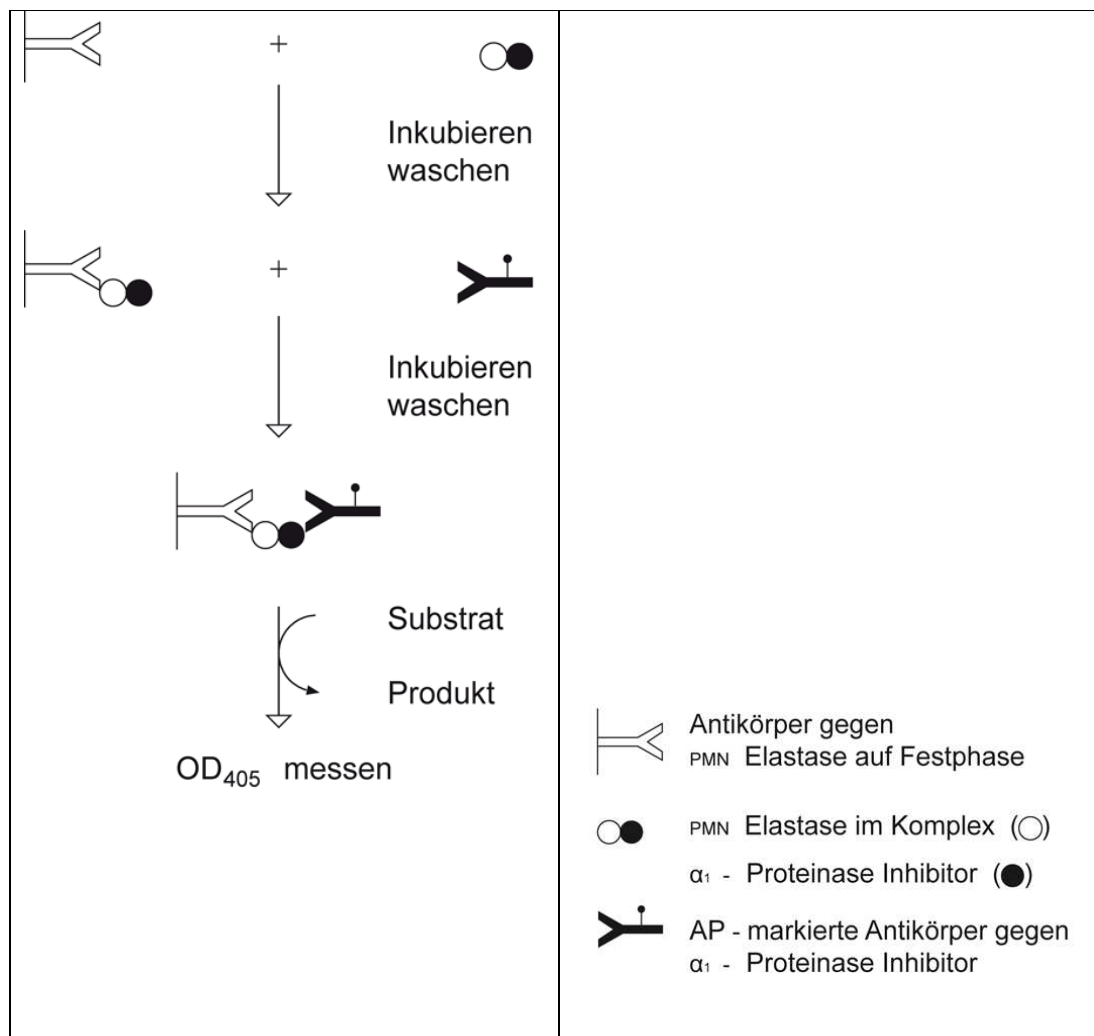


Abb. 3.3 Testprinzip der PMN – Elastase modifiziert nach Sponfeldner 1994

### **3.4.2 Durchführung der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung**

Zunächst erfolgte eine fünfmalige Vorwäsche der Mikrotiterplatte mit einem Waschpuffer. Anschließend wurden 100 µl Standards, die aus Humanserum hergestellt werden und PMN-Elastase-Konzentrationen im Wert von 0 – 0,62 – 2,5 – 10 und 40 ng/ml enthalten, in die vertikal ersten sechs Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Die daneben liegende Vertiefung befüllte ich jeweils mit dem gleichen Inhalt, um eine Doppelbestimmung zu erreichen. In die siebte Vertiefung wird ein Kontrollserum gegeben. Die Befüllung der restlichen Vertiefungen mit der gleichen Menge Plasma aus den Proben geschah im Anschluss.

Nach Zugabe der Standards, Kontrolle und Proben wurde die Platte mit den Proben eine Stunde lang bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubiert.

Darauf folgte erneut die mehrmalige Waschung der Platte mit Waschpuffer. Anschließend wurde die gesamte Platte mit je 100 µl monoklonaler Maus-PMN-Elastase-Antikörper beschickt und wie oben beschrieben inkubiert. Nach einer Stunde fand erneut eine fünfmalige Waschung statt; anschließend wurden 100 µl Peroxidase-markierter Antikörper in die Vertiefungen pipettiert. Erneut wurden die Proben eine Stunde lang unter Schütteln inkubiert.

Nach wiederholter Waschung glückte die Beschickung der Platte mit TMB-Substrat. Nach 20 Minuten Inkubation stellte sich eine blaue Farbe ein, die nach Zugabe von 50 µl einer schwefelsäurehaltigen Stopplösung in eine gelbe Farbe umschlug. Deren Farbintensität wurde mittels ELISA-Reader in Form der Extinktion gemessen.

### 3.4.3 Auswertung der PMN-Elastase-Assay-Bestimmung

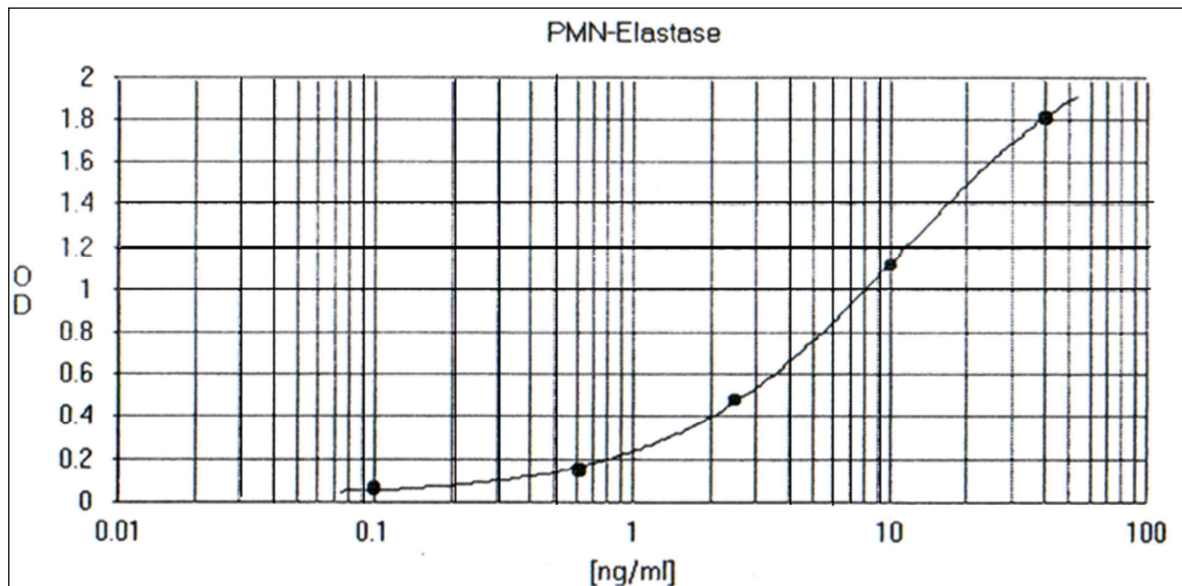


Abb. 3.4 Arbeitsanleitung/Manual PMN- Elastase Immun Diagnostik Bensheim

Anhand der für die Standards ermittelten Extinktionswerte wurde eine Eichkurve erstellt und die PMN-Elastase Konzentrationen der Proben errechnet.

## 3.5 Bestimmung der Totalen Antioxidativen Kapazität (TAK, ImAnOx-Wert)

### 3.5.1 Prinzip der TAK-Bestimmung

Die Berechnung der totalen antioxidativen Kapazität (TAK) erfolgte aus der Subtraktion der gemessenen Menge Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) von der anfänglich hinzugefügten Menge. Sie wird in Wasserstoffperoxidäquivalenten angegeben ( $\mu\text{mol/l}$ ) und beschreibt das antioxidative Potenzial des Plasmas.

Die Messung der antioxidativen Kapazität beruht auf dem Prinzip eines photometrischen Testsystems. Das Ergebnis des Tests beschreibt die Kapazität des Plasmas, Peroxide, d.h. Reaktionsprodukte von reaktiven Sauerstoffradikalen zu beseitigen.

Plasmaproben, Kalibrator und Kontrollen wird eine definierte Menge  $H_2O_2$  zugesetzt. In Abhängigkeit von ihrer Konzentration eliminieren die vorhandenen Antioxidantien einen Teil des  $H_2O_2$ . Der verbliebene Rest an Wasserstoffperoxid wird über eine enzymatische Reaktion mit Peroxidase quantifiziert.



Nach Zugabe der Stopplösung wird die chromogene Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 450 nm photometrisch erfasst. Die Berechnung des antioxidativen Potentials erfolgt aus der berechneten Extinktionsdifferenz, welche anschließend kalibriert wird.

Die Totale Antioxidative Kapazität des mütterlichen Plasmas wurde mittels eines ImAnOx-ELISA (Immundiagnostik AG, Bensheim, Deutschland) bestimmt.

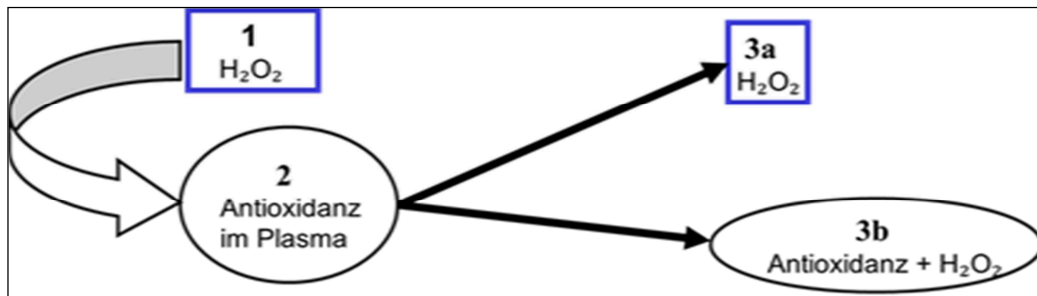


Abb. 3.5 Funktionsweise des photometrischen ImAnOx-Testsystems

1. Der Probe wird eine definierte Menge Wasserstoffperoxid zugegeben
2. In Abhängigkeit von der vorhandenen Antioxidantienkonzentration wird das Peroxid eliminiert.
- 3a. Die verbliebene Menge  $\text{H}_2\text{O}_2$  wird über eine enzymatische Reaktion photometrisch erfasst.
- 3b. Durch die vorhandenen Antioxidantien im Plasma gebundenes  $\text{H}_2\text{O}_2$

### 3.5.2 Durchführung der TAK-Bestimmung

Die Mikrotiterplatte des ImAnOx war gebrauchsfertig; somit konnten direkt 10 µl des Kalibrators, der zwei Kontrollen und der einzelnen Proben in die Vertiefungen pipettiert werden. Kalibrator und Kontrollen mussten zuvor resuspendiert werden. Für jede Probe waren vier horizontal liegende Vertiefungen vorgesehen, da je eine Doppelmessung mit Enzym und ohne Enzym erfolgte. Anschließend wurde in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte ein Reagenz gegeben, welches zunächst mittels Peroxidlösung und einem Reaktionspuffer hergestellt wurde. Diese Vorverdünnung wurde nochmals mit dem Reaktionspuffer verdünnt, was schließlich das fertige Reagenz darstellte. Daraufhin inkubierten die Proben zehn Minuten lang bei 37 °C.

Nun wurden zwei verschiedene Reagenzien hergestellt, von denen eines Peroxidase und das andere eine Kontrolllösung ohne Peroxidase enthielt. Somit lag eine Doppelbestimmung vor. Der zur Herstellung verwendete Reaktionspuffer musste resuspendiert werden. 100 µl der hergestellten Reagenzien wurden anschließend in die Mulden pipettiert. Es folgten eine fünfminütige Inkubation bei Zimmertemperatur, die Zugabe von 50 µl Stopplösung und schließlich die Messung mit dem Photometer.

Pipettierschema (Beispiel)

	Mit Enzym		Ohne Enzym		Mit Enzym		Ohne Enzym		Mit Enzym		Ohne Enzym	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P1	P1	P1	P1	P9	P9	P9	P9	P14	P14	P14	P14
B	P2	P2	P2	P2	K1	K1	K1	K1	P15	P15	P15	P15
C	P3	P3	P3	P3	P10	P10	P10	P10	P16	P16	P16	P16
D	P4	P4	P4	P4	Kal	Kal	Kal	Kal	P17	P17	P17	P17
E	P5	P5	P5	P5	P11	P11	P11	P11	P18	P18	P18	P18
F	P6	P6	P6	P6	K2	K2	K2	K2	P19	P19	P19	P19
G	P7	P7	P7	P7	P12	P12	P12	P12	P20	P20	P20	P20
H	P8	P8	P8	P8	P13	P13	P13	P13	P21	P21	P21	P21

Kal: Kalibrator

K1: Kontrolle 1

K2: Kontrolle 2

Px: Patientenprobe

Abb. 3.6 Arbeitsanleitung / Manual ImAnOx Immundiagnostik Bensheim

### 3.5.3 Auswertung der TAK-Bestimmung

Die Berechnung der Totalen Antioxidativen Kapazität (TAK) erfolgte – wie eingangs beschrieben – aus der Subtraktion der gemessenen Menge von der anfänglich hinzugefügten Menge Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Die Differenz der Mengen ist umgekehrt proportional zur Konzentration an Wasserstoffperoxid-Äquivalenten und wurde aus den Werten der Extinktionsmessungen mit Peroxidase und ohne Peroxidase berechnet. Im Anschluss erfolgte eine Kalibrierung.

$$\text{Antioxidative Kapazität einer Probe } (\mu\text{mol/l}) = 392 - (392 - \text{Konz. Kalibrator}) \times \frac{\Delta\text{OD Probe}}{\Delta\text{OD Kalibrator}}$$

### 3.6 Bestimmung der Harnsäure (2,6,8-Trihydroxypurin)

Die Harnsäurebestimmung wurde vom Zentrallabor der Universität Leipzig mit einem UA-Plus-Kit der Firma Roche durchgeführt. Harnsäure wird durch das Enzym Uricase in

Allantoin umgewandelt, wobei das entstehende  $\text{H}_2\text{O}_2$  mit 4-Aminophenazon und TOOS (N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylanilin) unter katalytischer Wirkung der Peroxidase einen Chinondimin-Farbstoff bildet. Die Intensität des Farbstoffs wird anschließend kalimetrisch gemessen.

### 3.7 Statistik

Die statistischen Analysen und graphischen Darstellungen wurden mit SPSS Version 11+5 durchgeführt (SPSS Chicago, IL, USA).

Die Daten wurden auf Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnoff-Test geprüft und als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. Zur Charakterisierung der Verteilung wurden auf Quartilen beruhende Boxplots verwendet. Der Interquartilabstand wurde als Kasten (*box*) dargestellt. Unterkante und Oberkante der *box* geben die Lage des unteren und oberen Quartil an. Maximum und Minimum wurden gekennzeichnet. Werte, die mehr als das 1,5-fache vom Interquartilabstand entfernt waren, wurden als Ausreißer bezeichnet. Werte, die mehr als das 3-fache von der *box* entfernt waren, wurden als Extremwerte bezeichnet. Der Median als mittlerer Rang wurde in der *box* als dicker schwarzer Strich markiert. Die Antennen an der *box* stellen jeweils den kleinsten bzw. größten Wert dar, der nicht als Ausreißer gilt.

Der Vergleich normalverteilter Daten wurde mit dem t-Test vorgenommen; für nicht-normalverteilte Daten wurde der Mann-Whitney-U Test verwendet.

Um den Zusammenhang zwischen zwei Merkmalen darzustellen, verwendete ich in dieser Studie bei einem metrischen Skalenniveau zweier Merkmale die Korrelationsberechnung nach Pearson; bei ordinal zu interpretierenden Merkmalen wie *notch*-Angaben fand die Korrelationsberechnung nach Spearman Verwendung. Der Korrelationskoeffizient (KK) als Maßzahl für den linearen Zusammenhang zweier quantitativer Merkmale wurde positiv bewertet, wenn hohen Werten eines Merkmals jeweils hohe Werte des anderen Merkmals entsprachen, und negativ bei einem umgekehrten Verhältnis (hohe vs. niedrige Werte). Je enger die Beziehung zweier Merkmale ist, desto näher liegt der KK bei 1. Bei einem Nullwert fehlt ein linearer Zusammenhang.

Die logistische Regression verwendete ich als Analysemethode, um zu berechnen, wie groß das Risiko war, eine PE und / oder IUGR im Laufe der Schwangerschaft zu entwickeln. Das Outcome der Schwangerschaft definierte ich als binäres Merkmal. Es gibt statistisch betrachtet nur zwei Möglichkeiten: entweder zu erkranken oder gesund zu bleiben. Die *odds ratio*, in den Tabellen als „Exp(B)“ angegeben, entspricht dem relativen Risiko zu erkranken. Für die Schätzung des Geburtsgewichts wurde die lineare Regression hinzugezogen, da sowohl der gemittelte Pulsatilitätsindex (PMIT) als auch das Geburtsgewicht ein metrisches Skalenniveau aufweisen. Das Quadrat des Korrelationskoeffizienten ( $r^2$ ), wird als Bestimmtheitsmaß angegeben. Es ist der Anteil der durch die Regression erklärten Streuung – in unserem Fall des Geburtsgewichts, auch Varianz genannt. Bei allen Analysen wurde ein p-Wert von  $< 0,05$  als signifikant bewertet.

## 4 Ergebnisse

In meiner Untersuchung wurden Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion in der 21. bis 24. SSW erfasst und einer Blutentnahme unterzogen, aus der Parameter für Entzündungsreaktionen und oxidativen Stress ermittelt wurden. Die Ergebnisse wurden einer Kontrollgruppe mit normaler uteriner Perfusion gegenübergestellt. Es folgte eine Follow-up-Studie vorwiegend der Patientinnen, die eine pathologische uterine Perfusion zeigten. Sie hatte zum Ziel, den tatsächlichen Ausgang der Schwangerschaft, in seinem Verhältnis zu den genannten Parametern zu betrachten. In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse meiner Untersuchungen dargestellt.

Blutproben von Schwangeren mit normaler uteriner Perfusion und von Patientinnen mit pathologischer uteriner Perfusion habe ich auf Parameter des oxidativen Stresses und der Inflammation hin untersucht. Insgesamt wurden 50 Probandinnen herangezogen, davon 20 mit normaler Schwangerschaft und 30 mit pathologischer uteriner Perfusion. 11 Patientinnen des durch Dopplersonographie ermittelten Risikokollektivs entwickelten PE, IUGR oder beide Pathologien. Die folgenden Tabellen listen einige klinisch relevante Eigenschaften der Probandinnen auf.

#### 4.1 Klinische Eigenschaften der untersuchten Probandinnen

	Perfusionsstörung	Kontrollgruppe	Signifikanz
<b>Alter</b>	27 ± 5	29 ± 4,5	ns
<b>Geburtsgewicht (g)</b>	2660 ± 985	3705 ± 766	**
<b>SSW zur E</b>	37 ± 4,6	39 ± 1,9	ns
<b>Parität</b>	0,43	0,70	ns
<b>SSW zur BE</b>	20,7	20,0	ns
<b>PMIT</b>	0,86	1,66	**
<b>N</b>	30	20	

*Tabelle 4.1 Klinische Eigenschaften der untersuchten Probandinnen.*

*Mittelwerte ± S.D.,*

*\*\*  $p < 0,01$ ,*

*ns = nicht signifikant;*

*Geburtsgewicht = g;*

*Kontrollgruppe N = 8;*

*Perfusionsstörung N = 27;*

*PMIT = gemittelte Pulsatilitätsindizes;*

*SSW = Schwangerschaftswoche;*

*BE = Blutentnahme;*

*E = Entbindung;*

*N = Fallzahl.*

**Outcome-Parameter von 11 Probandinnen mit Schwangerschaftskomplikationen**

	Ausgang	SSW	Gewicht	Modus	phNA	PMN	MPO	TAK	Urat	AQ
1.	PE+IUGR	31,2	950	Sectio	7,31	7,67	14,4	221	227	0,97
2.	IUGR	35,3	1610	Sectio	7,25	6,42	7,20			
3.	PE	40,4	2755	Spontan	7,26	3,46	25,6	249	121	2,06
4.	IUGR	39,1	2650	Sectio	7,34	7,16	47,2	204	232	0,88
5.	PE	38,5	3190	Spontan	7,23	5,84	36,4	237	148	1,60
6.	PE	34,6	1725	Sectio	7,14	2,92	28,8	244	235	1,04
7.	PE+IUGR	37,6	2020	Sectio	7,30	7,14	24,05	240	135	1,78
8.	PE+IUGR	37,2	2450	Sectio	7,33	7,52	16,55	232	167	1,39
9.	IUGR	29,6	985	Sectio	7,24	9,54	23,25	236	242	0,98
10.	PE	41,2	2885	Spontan	7,39	10,03	19,45	252	134	1,88
11.	PE	29,2	1420	Spontan	+	6,79	17,20	245	153	1,60

Tabelle 4.2

Gewicht in g, MPO- und PMN-Konzentrationen in ng/ml, TAK in  $\mu\text{mol/l}$ , Urat = Harnsäure in  $\mu\text{mol/l}$ , Antioxidativer Quotient (TAK/URAT)

## 4.2 Untersuchungen des Plasmas

### 4.2.1 Myeloperoxidase

#### *Charakterisierung der Entzündungsreaktion im Plasma durch Bestimmung der Myeloperoxidase-Konzentration*

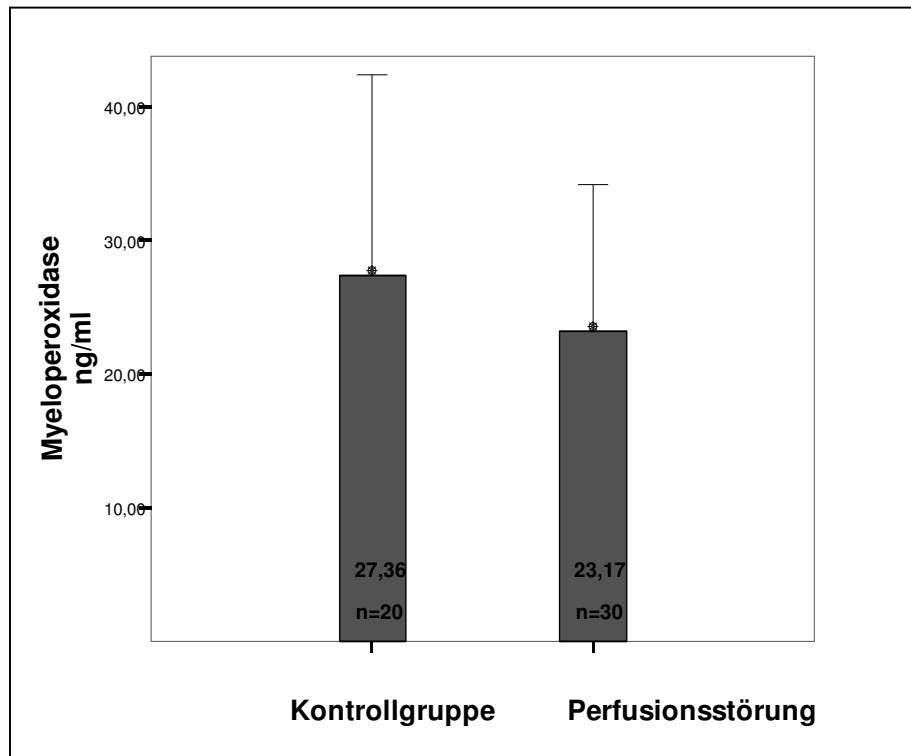


Abb. 4.1

Mittelwert der MPO-Konzentration im Plasma gesunder Schwangerer (27,36 ng/ml  $\pm$  14,93 (SD) ng/ml) mit normaler uteriner Perfusion, N = 20;

Mittelwert der Schwangeren mit pathologischer uteriner Perfusion (23,17 ng/ml  $\pm$  10,97 (SD) ng/ml), N = 30, ( $p = 0,26 = ns$ ).

Der Vergleich der Myeloperoxidase-Konzentration im Plasma der beiden untersuchten Gruppen zeigt, dass es keine signifikanten Unterschiede gibt.



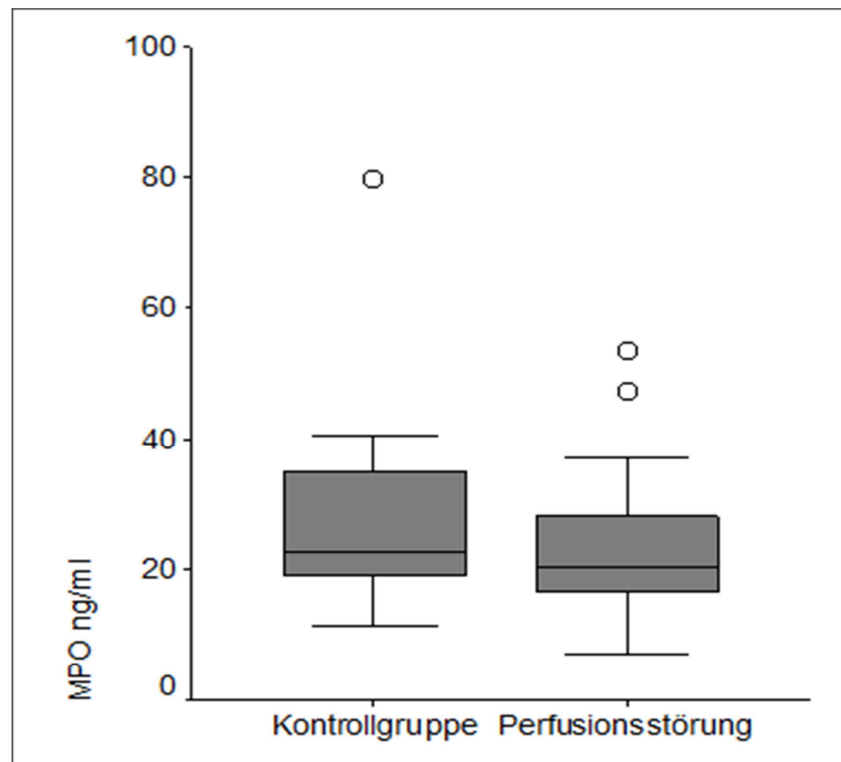


Abb. 4.2

*Kontrollgruppe, N = 20, Median = 22,80 ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 34,34 ng/ml und Untergrenze 20,37 ng/ml;*

*Perfusionsstörung, N = 30, Median = 20,43 ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 27,27 ng/ml und Untergrenze 19,08 ng/ml.*

Durch den Boxplot lässt sich die Verteilung der beiden Gruppen gut darstellen. Es gibt keine Extremwerte<sup>1</sup>. Die Kontrollgruppe weist den höheren Median und die größere Streuung auf. Im T-Test waren die Mittelwertunterschiede nicht signifikant. In der pathologischen Gruppe gibt es zwei Ausreißer<sup>2</sup>, in der Kontrollgruppe einen. Insgesamt stellt sich also eine homogene Verteilung mit nicht signifikanten Unterschieden dar.

<sup>1</sup> Werte, deren Entfernung von der Box mehr als drei Quartil-Abstände beträgt.

<sup>2</sup> Werte, die um mehr als 1,5 Quartil-Abstände von der Box entfernt sind.

### Plasmawerte anhand exemplarischer Falldarstellungen

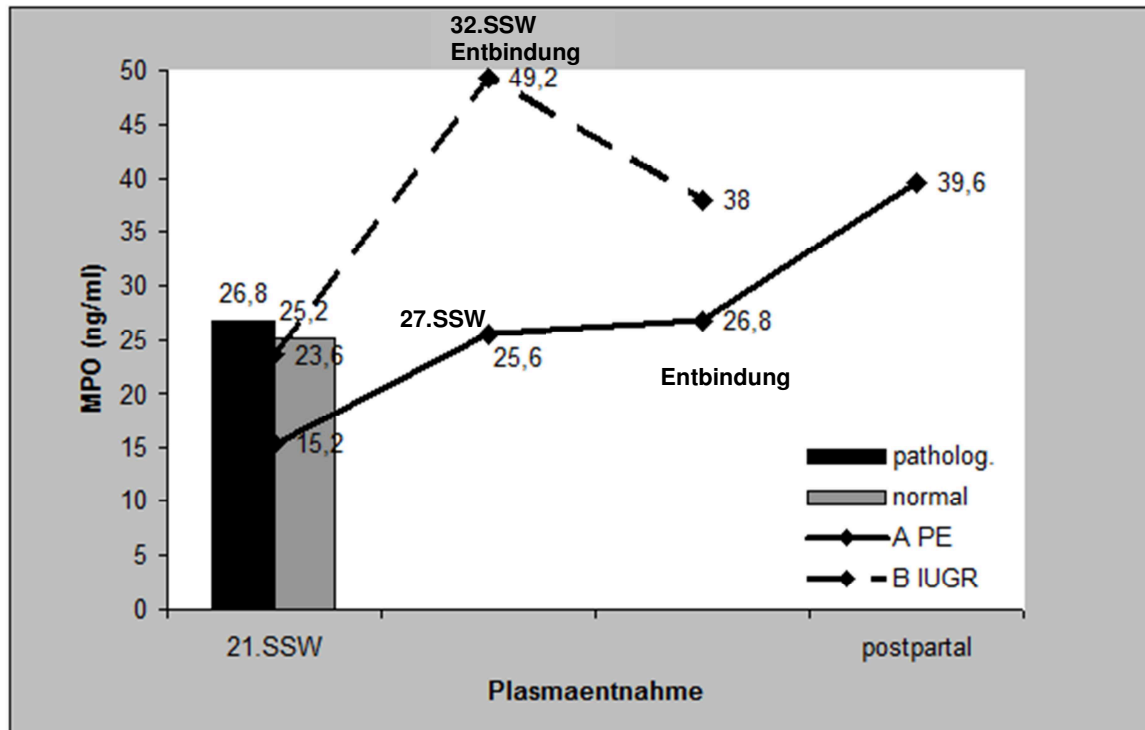


Abb. 4.3 Falldarstellung I

Fall A – PE: 21. SSW; MPO: 15,2 ng/ml; 27. SSW; MPO: 25,6 ng/ml; 28. SSW; MPO: 26,8 ng/ml; post partum; MPO: 39,6 ng/ml;

Fall B – IUGR: 21. SSW; MPO: 23,6 ng/ml; 32. SSW; MPO: 49,2 ng/ml; post partum; MPO: 38 ng/ml.

In einem Fall wurde die Myeloperoxidase-Konzentration im Plasma bei Feststellung der pathologischen uterinen Perfusion in der 21. SSW gemessen; ein weiteres Mal, als die Schwangere erste Symptome einer Präeklampsie in der 27. SSW zeigte, anschließend zum Zeitpunkt des Vollbildes einer PE in der 28. SSW mit nachfolgender Sectio und schließlich post partum. Ebenso wurde die MPO-Konzentration im Plasma einer Frau mit IUGR und pathologischer uteriner Perfusion in der 21. SSW, in der 32 SSW und post sectionem bestimmt. Deutlich wird bei diesen beiden Verläufen, dass der Enzymwert zum Zeitpunkt der Screening Untersuchung mit Dopplersonographie keine Erhöhung zeigt, mit Manifestation der Erkrankung aber sichtbar ansteigt und schließlich post partum wieder abfällt.

**Konzentration der Myeloperoxidase nach Häufigkeit eines notching**

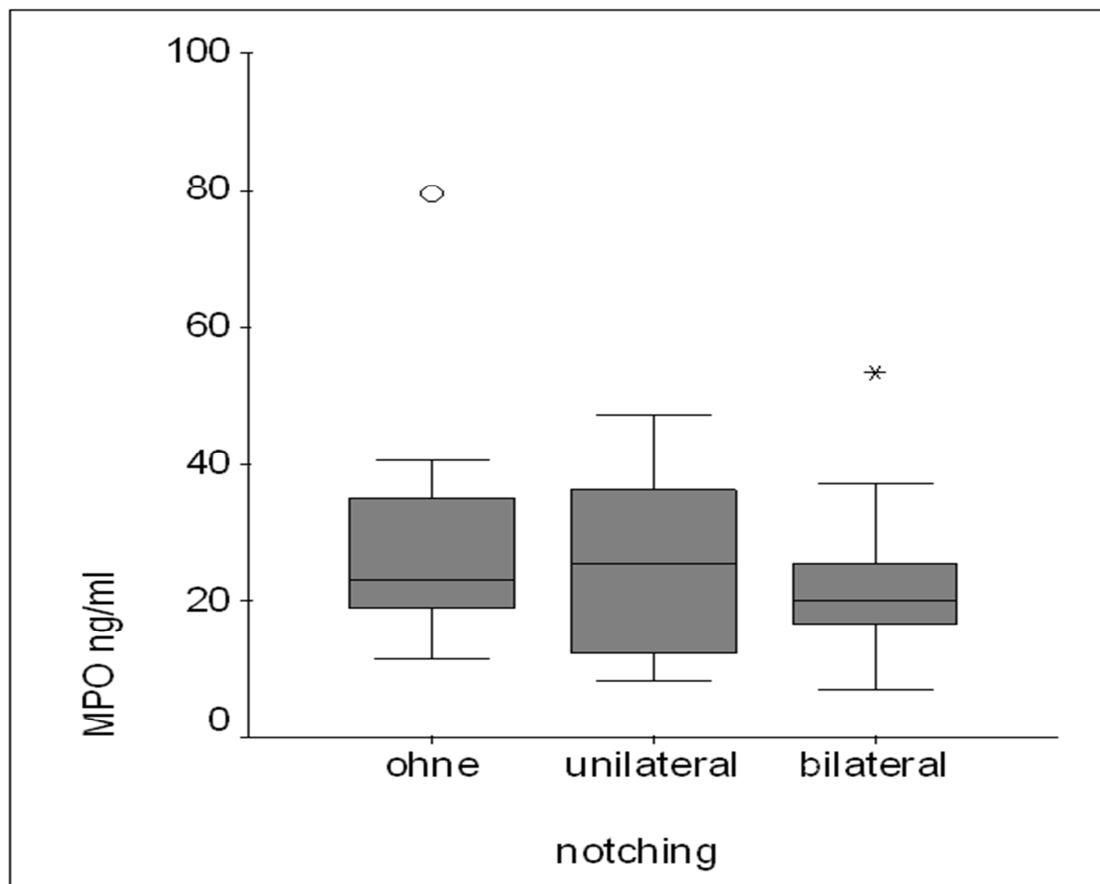


Abb. 4.4

Ohne notch, N = 23, Median = 23,2 ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 33,23 ng/ml und Untergrenze 21,00 ng/ml;

Unilateral, N = 5, Median = 25,60 ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 46,16 ng/ml und Untergrenze 5,78 ng/ml;

Bilateral, N = 22, Median = 20,05ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 26,75ng/ml und Untergrenze 17,68ng/ml.

Der Medianvergleich zeigt keinen signifikanten Unterschied. In der Gruppe ohne *notch* gibt es einen Ausreißer. Bei bilateralem *notching* ist die Streuung niedriger als bei unilateralem *notching*. Es gibt einen Ausreißer. Die Streuung der MPO-Konzentrationen ist, gemessen an der Standardabweichung, beim unilateralen Notch besonders groß. Allerdings hat diese Gruppe weder Ausreißer noch Extremwerte.

### **MPO-Konzentration in Bezug auf den Pulsatilitätsindex**

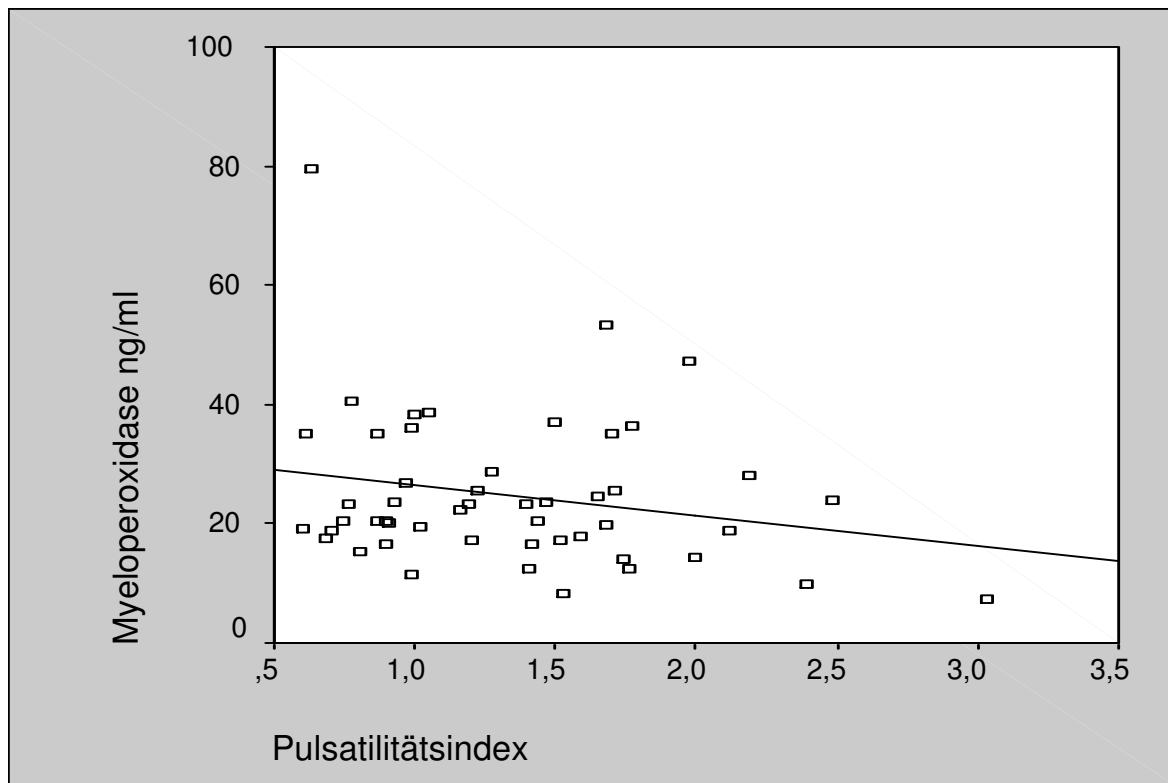


Abb. 4.5

*KK=Korrelationskoeffizient - 0,221,  $p = 0,12$ ,  $N=50$ , Korrelation nach Pearson.*

Zwischen der Myeloperoxidase-Konzentration und dem Pulsatilitätsindex besteht kein signifikanter Zusammenhang.

### **Berechnung der odds ratio für die Entwicklung einer PE/IUGR mittels MPO Spiegelmessung**

	Regressions- koeffizient B	Standard- fehler	Wald	df	Sig.	Exp(B)
<b>MPO-</b>	-,007	,034	,045	1	,832	,993
<b>Konstante</b>	,025	,879	,001	1	,977	1,025

Tabelle 4.3.

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*, das bedeutet: steigt der MPO-Wert um eine Einheit, reduziert sich das Risiko für einen pathologischen Ausgang um 0,99. MPO ist kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang. Der Zusammenhang zwischen MPO und Ausgang ist nicht signifikant.  $p=0,83$ .

#### 4.2.2 PMN- Elastase

##### **Charakterisierung der Entzündungsreaktion im Plasma durch Bestimmung der PMN-Elastase-Konzentration**

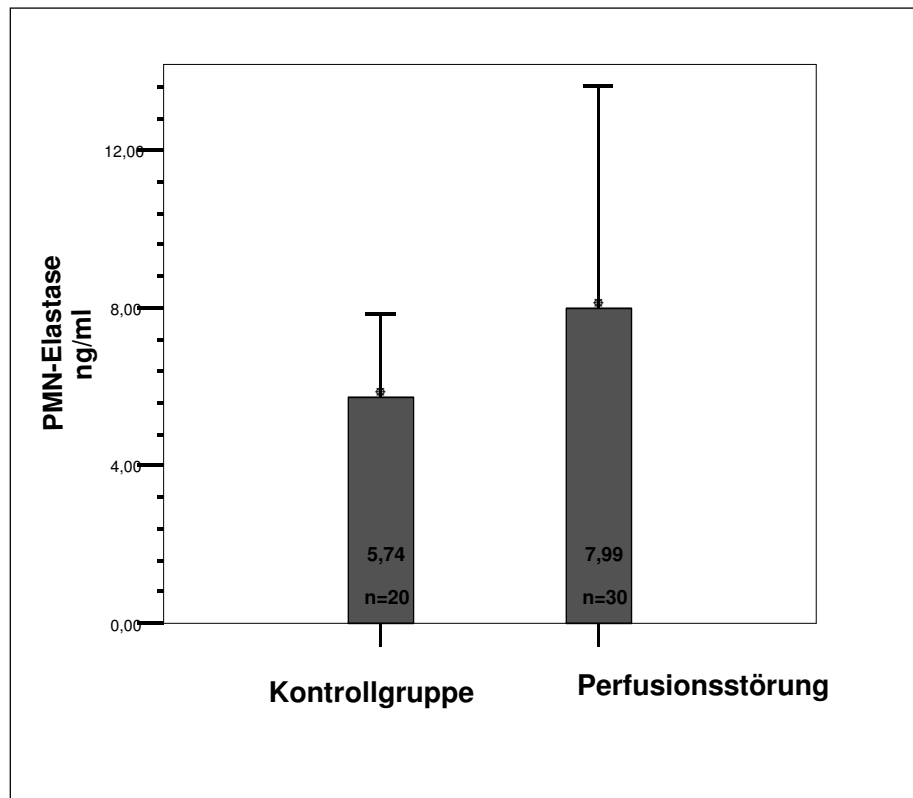


Abb. 4.6

Mittelwert der Kontrollgruppe  $N=20$  (5,74 ng/ml  $\pm$  2,1 SD ng/ml);

Mittelwert der Gruppe mit pathologischer uteriner Perfusion  $N=30$  (7,99 ng/ml  $\pm$  5,65 ng/ml) ( $p = 0,096$ ).

Es gibt deutliche Mittelwertunterschiede der PMN-Elastase-Konzentration zwischen Kontrollgruppe und pathologischer Gruppe. Der PMN-Wert ist laut Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest nicht normalverteilt; daher wird auf den nichtparametrischen Mann-Whitney-U-Test zurückgegriffen. Kontrollgruppe und pathologische Gruppe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander.

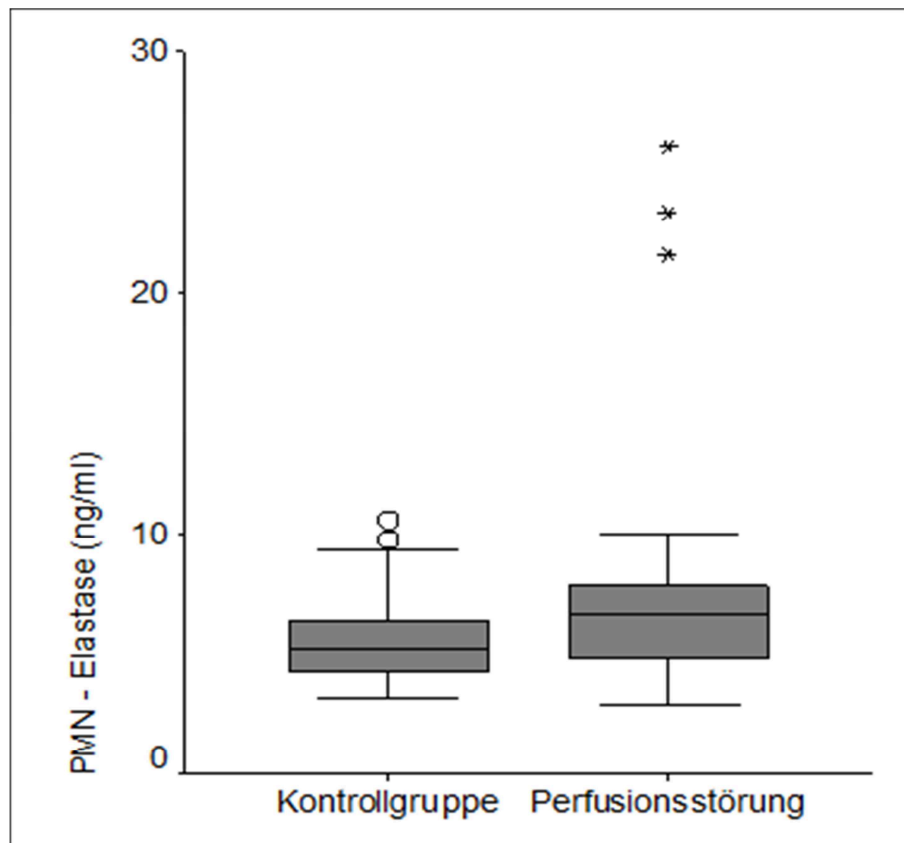


Abb. 4.7.

Kontrollgruppe:  $N = 20$ , Median = 5,16ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 6,72 ng/ml und Untergrenze 4,79 ng/ml;

Pathologische uterine Perfusion:  $N = 30$ , Median = 6,60 ng/ml, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 10,10 ng/ml und Untergrenze 5,89 ng/ml.

Im Boxplot ist die Verteilung der beiden Gruppen gut darstellbar. In der pathologischen Gruppe ist zum einen der Median höher, zum anderen die Streuung größer. Die pathologische Gruppe zeigt drei Extremwerte. In der Kontrollgruppe gibt es lediglich zwei Ausreißer. Die schwarzen „T“-Linien markieren den Bereich des 95 %-Konfidenzintervalls. Die pathologische Gruppe ist sowohl durch einen deutlich höheren Maximalwert als auch durch eine höhere Standardabweichung gekennzeichnet. PMN ist offenbar bei pathologischem Verlauf nicht immer erhöht, dies kann aber bei einigen Probanden der Fall sein (vgl. exemplarische Falldarstellung II).

**Die prädiktive Wertigkeit der PMN-Elastase-Konzentrationsbestimmung, einen pathologischen Ausgang vorherzusagen**

	Regressions- koeffizient B	Standard- fehler	Wald	df	Sig.	Exp (B)
<b>PMN-</b>	-0,082	0,097	0,718	1	0,397	0,921
<b>Konstante</b>	0,538	0,802	0,450		0,502	1,712

Tabelle 4.4

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*. Steigt der PMN Wert um eine Einheit, reduziert sich das Risiko für einen pathologischen Ausgang um 0,92. PMN ist kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang. Der Zusammenhang zwischen PMN und Ausgang ist nicht signifikant ( $p=0,4$ ).

**PMN-Elastase-Konzentration in Bezug auf den Pulsatilitätsindex**

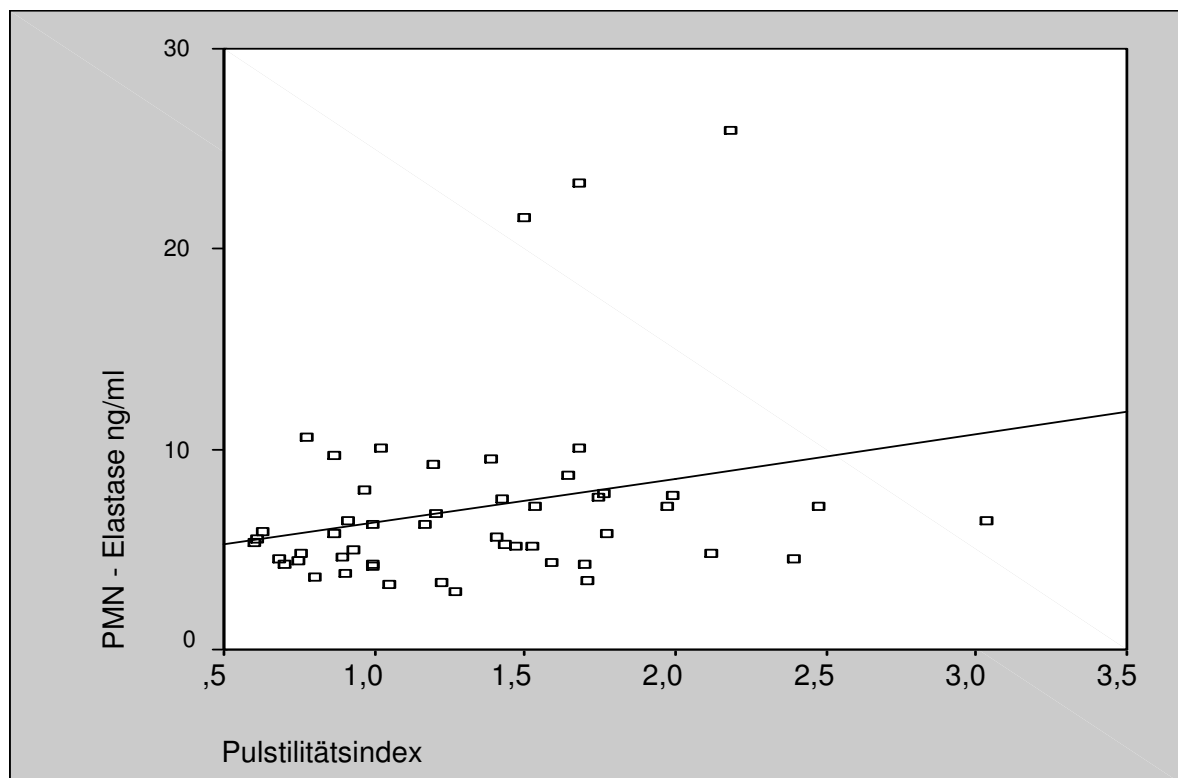


Abb. 4.8.

Korrelationskoeffizient (KK) 0,256,  $p = 0,073$ ,  $N = 50$

Ein schwach positiver, aber nicht signifikanter Zusammenhang wird deutlich.

### PMN-Elastase-Spiegel anhand exemplarischer Falldarstellungen

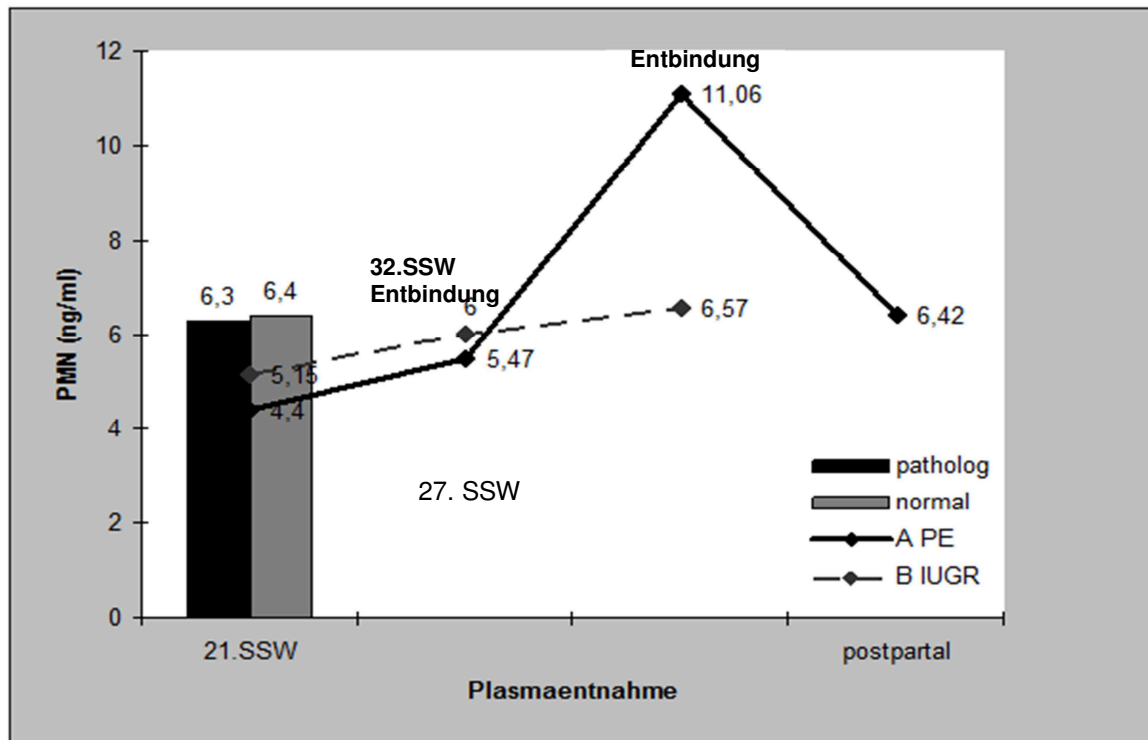


Abb. 4.9 Falldarstellung II

Fall A (Präeklampsie): 21. SSW; PMN: 4.4 ng/ml; 27. SSW; PMN: 5.5 ng/ml; 28. SSW; PMN: 11.1 ng/ml; post partum; PMN: 6,4 ng/ml;

Fall B (IUGR): 21. SSW; PMN: 5.1 ng/ml; 32. SSW; PMN: 6.0 ng/ml; post partum, PMN: 6, 6 ng/ml.

Bei einer Patientin wurde der PMN-Elastase-Spiegel bei Feststellung der pathologischen uterinen Perfusion in der 21. SSW bestimmt, als sie erste Symptome einer Präeklampsie in der 27. SSW zeigte. Eine weitere Messung erfolgte zum Zeitpunkt des Vollbildes einer PE in der 28. SSW mit anschließender Sectio caesarea.



Die Elastase wurde ebenso bei einer anderen Patientin mit pathologischer uteriner Perfusion in der 21. SSW und in der 32. SSW bestimmt, die eine schwere IUGR entwickelte.

Deutlich wird bei diesen beiden Verläufen, dass das Enzym zum Zeitpunkt der Screening Untersuchung mit Dopplersonographie keine Erhöhung zeigt, mit Manifestation der Erkrankung aber sichtbar ansteigt und schließlich post partum wieder abfällt.

***Gibt es einen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern der neutrophilen Aktivität Myeloperoxidase und PMN-Elastase?***

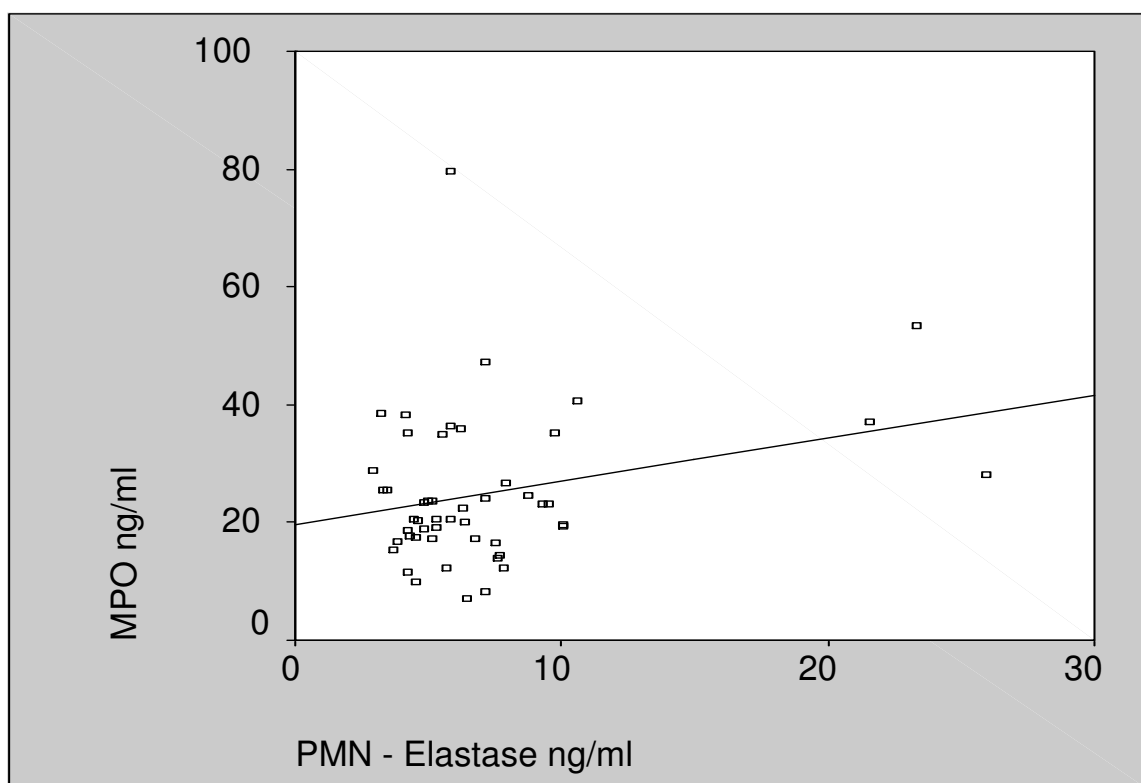


Abb. 4.10.

$KK = 0,269$ ;  $p = 0,059 \text{ ns}$ ,  $N = 50$ .

Hier wird ein leicht positiver, aber nicht signifikanter Zusammenhang zwischen der Myeloperoxidase-Konzentration und der PMN-Elastase-Konzentration im Plasma Schwangerer zum Zeitpunkt der uterinen Dopplermessung deutlich.

### 4.2.3 ImAnOx-Test

**Charakterisierung der Totalen Antioxidativen Kapazität durch Messung der Reaktion des Plasmas auf Wasserstoffperoxid, gemessen in Wasserstoffperoxidäquivalenten  $\mu\text{mol/l}$  (ImAnOx-Test)**

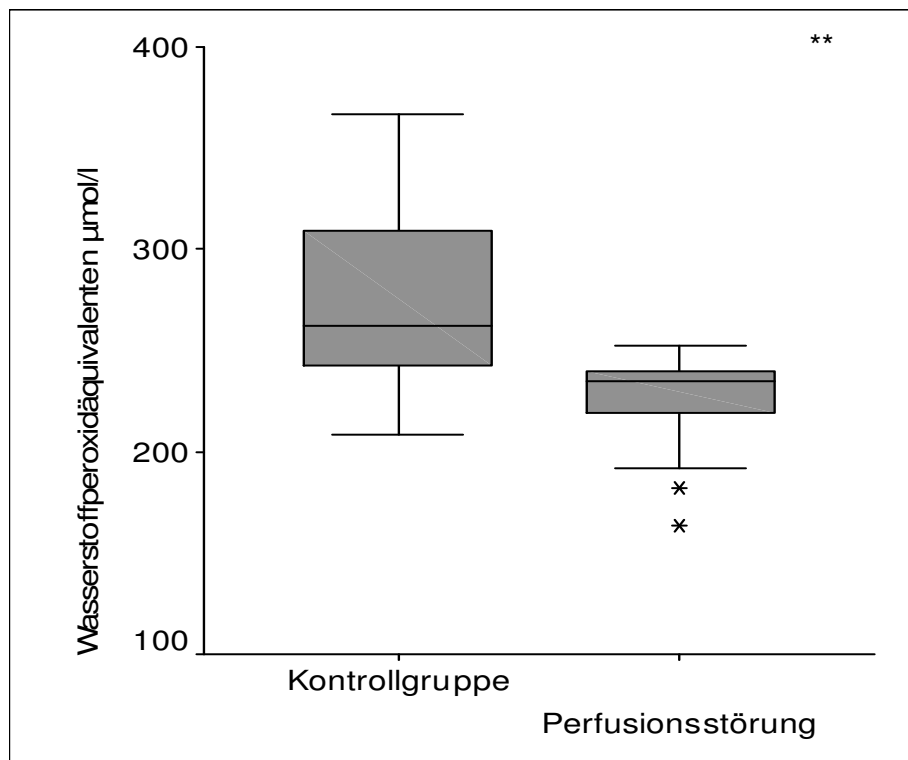


Abb. 4.11

Kontrollgruppe mit normaler uteriner Perfusion,  $N = 18$ , Median  $262,5\mu\text{mol/l}$ , 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze  $297,29\mu\text{mol/l}$  und Untergrenze  $253,15\mu\text{mol/l}$ ;

Schwangere mit pathologischer uteriner Perfusion,  $N = 28$ , Median  $234,5\mu\text{mol/l}$ , 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze  $235,48\mu\text{mol/l}$  und Untergrenze  $219,02\mu\text{mol/l}$ .

Der ImAnOx-Test gibt die Totale Antioxidative Kapazität des Plasmas an. In der Kontrollgruppe zeigt sich in der Boxplotdarstellung eine größere Streuung. Bei pathologischer Perfusion ist der Median kleiner; insgesamt ist die Gruppe relativ homogen. Nach unten gibt es zwei Ausreißer.

**Mittelwertvergleich der Ergebnisse des ImAnOx-Tests**

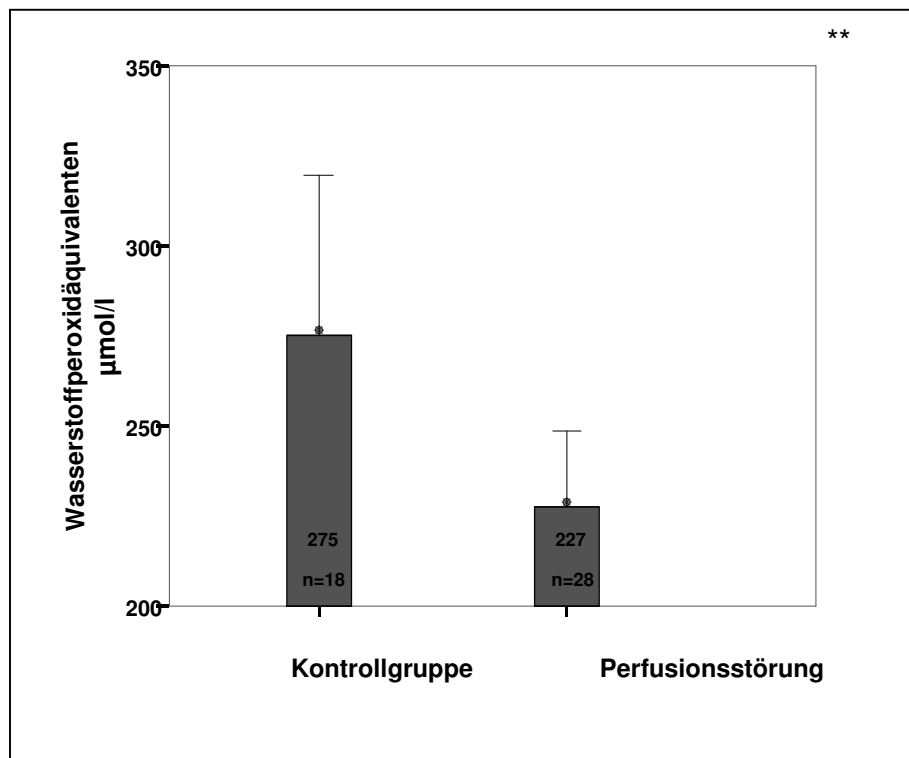


Abb. 4.12

Mittelwert der Kontrollgruppe mit normaler uteriner Perfusion: 275,22 µmol/l  $\pm$  44 µmol/l (SD), N = 18;

Mittelwert der Schwangeren mit pathologischer uteriner Perfusion: 227,25 µmol/l  $\pm$  21,23 µmol/l (SD) N= 28, ( $p < 0.001^{**}$ ).

Anhand des Balkendiagramms werden deutliche Mittelwertunterschiede zwischen den beiden Gruppen sichtbar. Der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf Normalverteilung zeigt, dass ImAnOx sowohl in der Gesamtstichprobe als auch innerhalb der beiden Gruppen normalverteilt ist. Bei einer pathologischen uterinen Perfusionsstörung liegt eine signifikante Verminderung der TAK vor. Selbst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % ist der Unterschied hochsignifikant ( $p < 0,001$ ).

***Zuverlässigkeit der Prognose eines pathologischen  
Schwangerschaftsausgangs mittels des ImAnOX-Tests***

	<b>Regressions- koeffizient B</b>	<b>Standard- fehler</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp (B)</b>
<b>ImAnOx</b>	0,052	0,029	3,134	1	0,077	1,053
<b>Konstante</b>	-12.104	6,801	3,167	1	0,075	0,000

Tabelle 4.5

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*. Das Risiko für einen pathologischen Ausgang ist bei einem Anstieg des ImAnOx-Wertes um eine Einheit um das 1,05-fache erhöht. ImAnOx ist somit kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang. Der Zusammenhang zwischen ImAnOx-Wert und Ausgang ist nicht signifikant.  $p = 0,08$ . Beim Ausgang wird zwischen einem normalen und einem pathologischen Schwangerschaftsverlauf, d.h. der Entwicklung einer PE oder einer IUGR unterschieden. Dies ist die abhängige Variable für eine logistische Regression, mit deren Hilfe geklärt werden soll, wie gut der ImAnOx-Wert geeignet ist, den Ausgang vorherzusagen. Den Werten der Tabelle ist zu entnehmen, dass die Bestimmung der Totalen Antioxidativen Kapazität (TAK) in Wasserstoffperoxidäquivalenten ( $\mu\text{mol/l}$ ) die Vorhersage für einen pathologischen Verlauf der Schwangerschaft nicht verbessert.

Obwohl bei der Korrelationsberechnung zwischen ImAnOx und uteriner Perfusionsstörung der Zusammenhang negativ ist (Abb. 4.13).

**Zusammenhang zwischen *ImAnOx* und dem Pulsatilitätsindex**

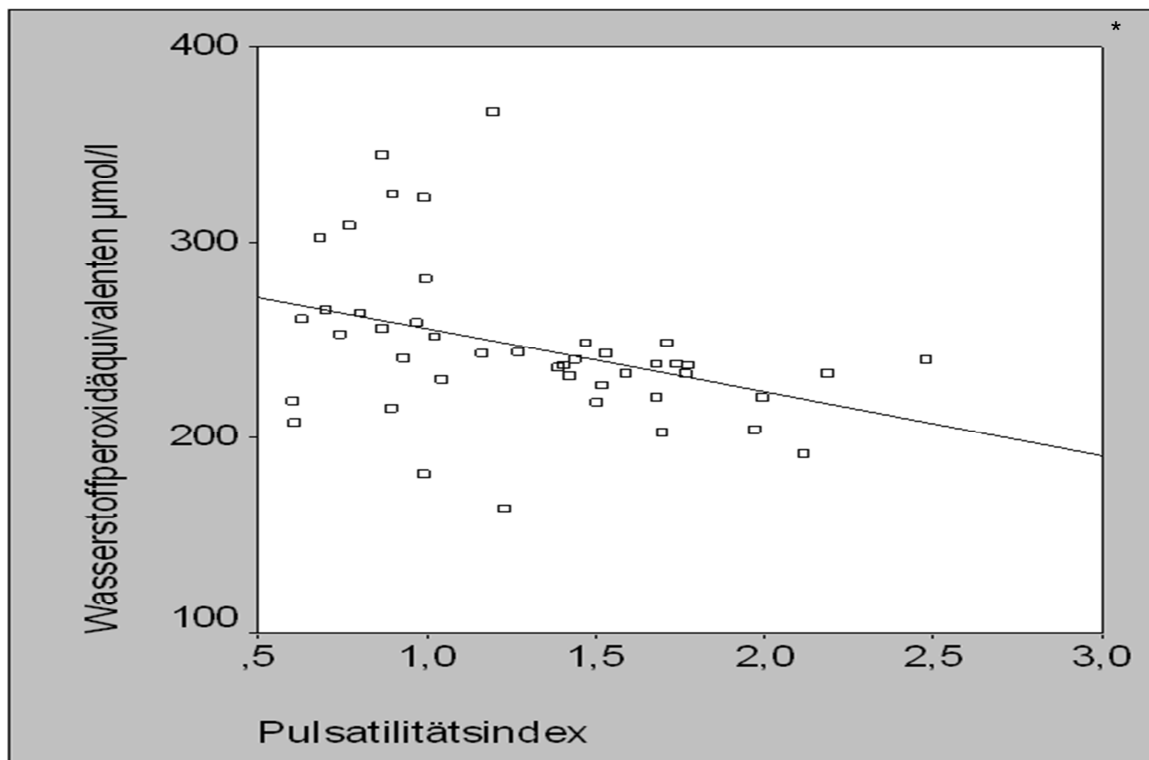


Abb. 4.13

\* Die Korrelation ist auf dem 0,05-Niveau signifikant ( $p = 0,012^*$ ; Korrelationskoeffizient  $KK$ : - 0,368,  $N = 46$ )

Da beide Werte metrisch skaliert sind, wird nach Pearson korreliert. Aus den Messungen ergibt sich ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen der antioxidativen Kapazität und dem Pulsatilitätsindex. Der Widerstand im uterinen Gefäß hängt signifikant mit der TAK zusammen.

***Wasserstoffperoxidäquivalente (ImAnOx) in Bezug auf die Häufigkeit eines notching***

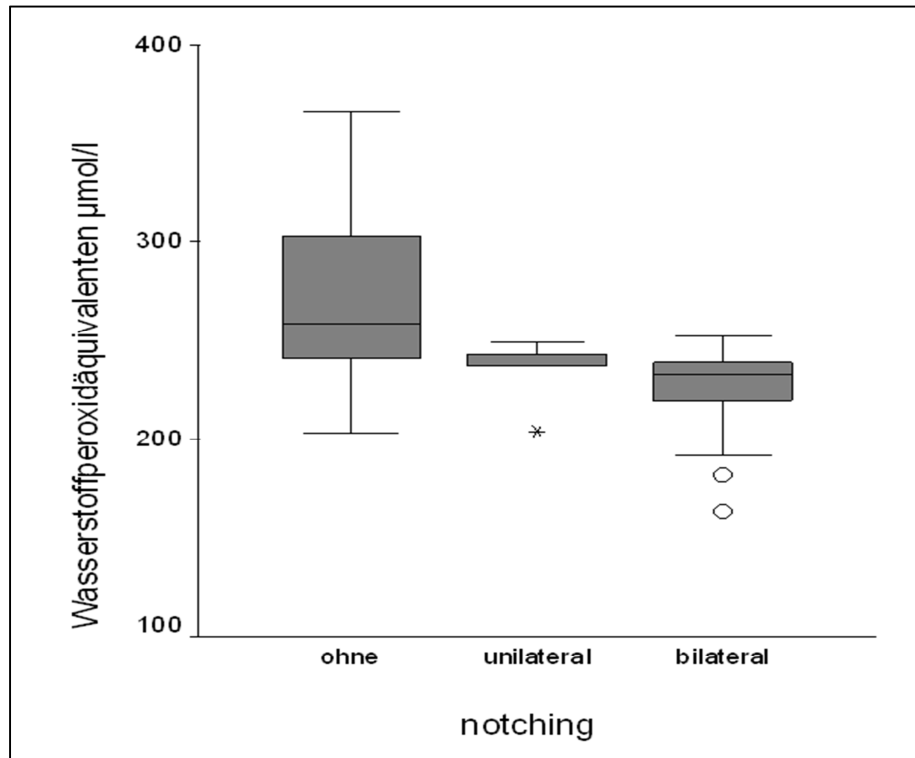


Abb. 4.14

*Ohne notch: N = 21, Median 259,00 µmol/l, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 288,94 µmol/l und Untergrenze 248,11 µmol/l;*

*Unilateraler notch: N = 5, Median 237 µmol/l, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 255,72 µmol/l und Untergrenze 212,28 µmol/l;*

*Bilateraler notch: N = 20, Median 233 µmol/l, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 235,9 µmol/l und Untergrenze 214,9 µmol/l.*

Unterteilt man die untersuchte Population in Gruppen je nach Auftreten eines *notch* und untersucht in diesen die TAK, wird in der Gruppe ohne *notch* eine große Streuung deutlich. Nur fünf Patientinnen weisen einen einseitigen *notch* auf, unter diesen besteht einen Extremwert. Bei der relativ großen Gruppe mit bilateralem *notch* zeigen sich zwei Ausreißer bei sonst geringerer Streuung. Der Median ist bei bilateralem vorliegenden *notch* am niedrigsten.

#### 4.2.4 Perfusionsstörung im zweiten Trimenon mit unauffälligem Verlauf vs. PE/IUGR-Entwicklung

##### Verteilung der Harnsäurespiegel

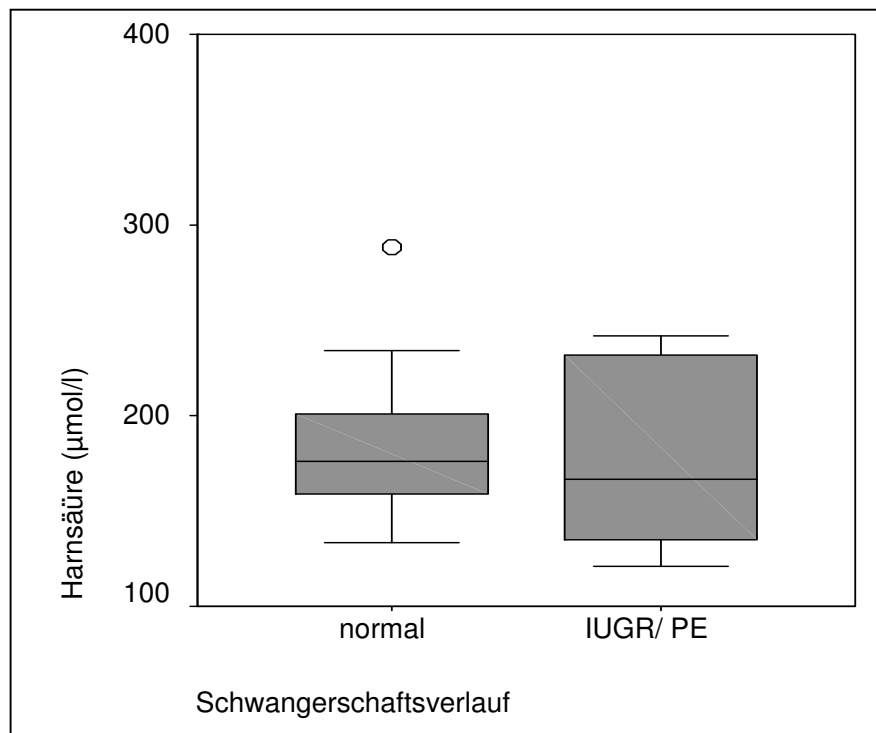


Abb. 4.15

Normaler Schwangerschaftsverlauf:  $N = 14$ , Median  $176 \mu\text{mol/l}$ , 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze  $185,02 \mu\text{mol/l}$  und Untergrenze  $164,36 \mu\text{mol/l}$ ;

IUGR und/oder PE:  $N = 11$ , Median  $162 \mu\text{mol/l}$ , 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze  $209,04 \mu\text{mol/l}$  und Untergrenze  $146,6 \mu\text{mol/l}$ ;

Der Mittelwertvergleich zeigt keinen signifikanten Unterschied  $187,57 \pm 40,21 \mu\text{mol/l}$  (normal) versus  $182,33 \pm 50,68 \mu\text{mol/l}$  (path.),  $p = 0,79\text{ns}$ .

Im Boxplot werden die Medianwerte der Gruppen sortiert nach Outcome der Schwangerschaft verglichen. Schwangerschaften, die mit einer IUGR bzw. PE enden, weisen einen niedrigeren Median auf; die Streuung ist in dieser Gruppe größer. In der Gruppe mit normalem Schwangerschaftsverlauf existiert ein Ausreißer. Die Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt der Dopplermessung im zweiten Trimenon, wobei

sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe, die später eine Pathologie entwickelte, und der Gruppe mit normal verlaufenden Schwangerschaften zeigte. Alle hier aufgeführten Frauen haben eine pathologische uterine Perfusion.

### ***Der Antioxidative Quotient***

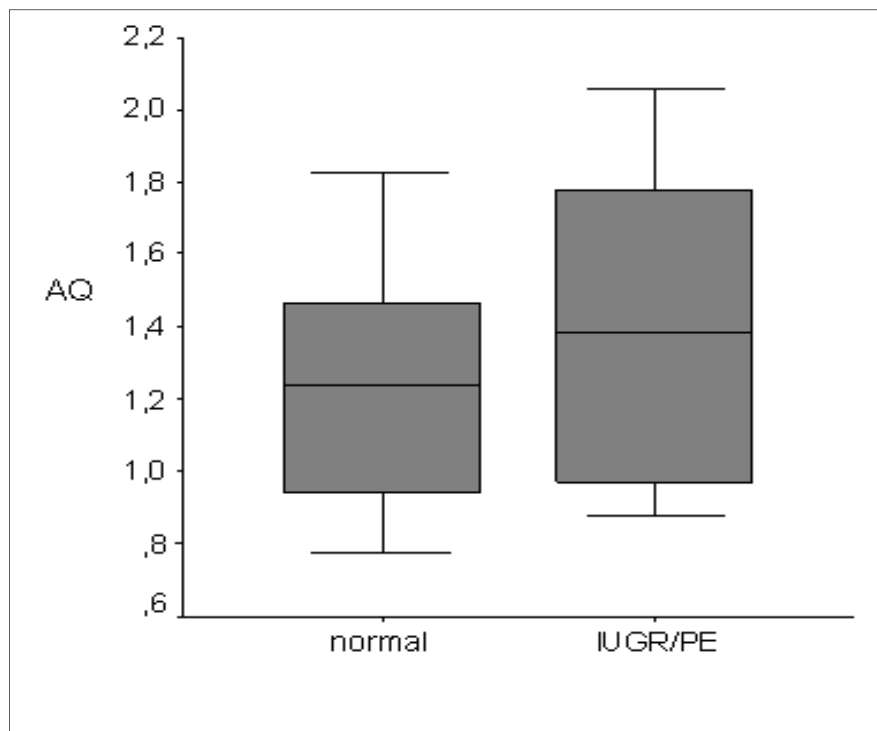


Abb. 4.16

*Normale Schwangerschaft : N = 14, Median 1,24, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 1,4 und Untergrenze 1,04;*

*Schwangere mit Entwicklung von IUGR und/oder PE: N = 11, Median 1,46, 95% Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 1,69 und Untergrenze 1,15.*

Schwangerschaften mit pathologischem Ausgang zeigen um die 20. SSW durchschnittlich einen höheren Antioxidativen Quotienten ( $1,40 \pm 0,45(\text{SD})$ ) versus  $1,22 \pm 0,31(\text{SD})$  ( $p = 0,27$ , ns). Im T-Test (AQ ist normalverteilt) ist dieser Unterschied nicht signifikant. Die Boxplotdarstellung zeigt, dass die Streuung in beiden Gruppen ähnlich ist. Die Berechnung des Antioxidativen Quotienten lässt keine Unterscheidung der beiden Gruppen im zweiten Trimenon zu.



**Zusammenhang zwischen AQ und PMIT**

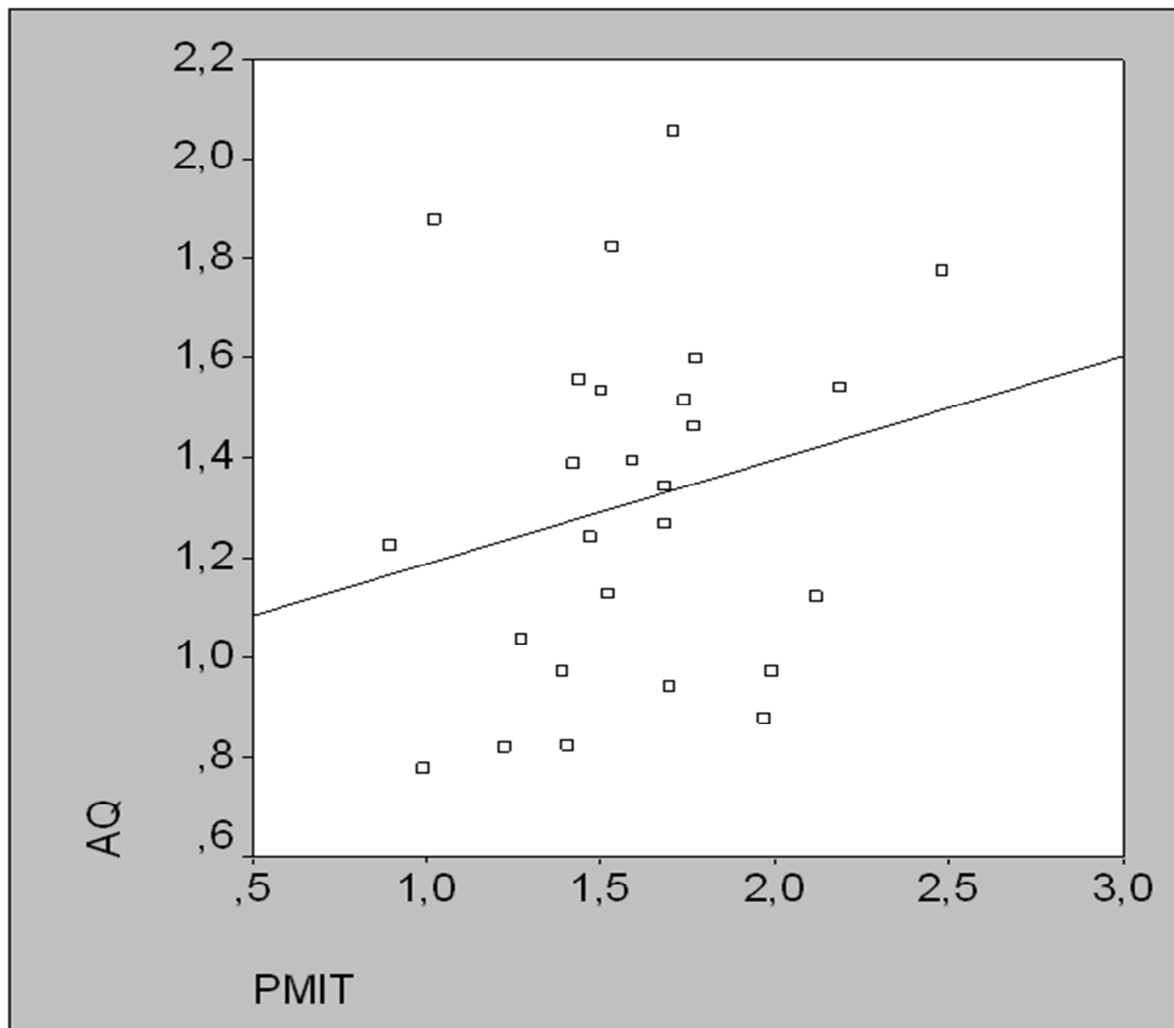


Abb. 4.17

Korrelationskoeffizient (KK): 0.225  $p < 0,25$  (ns).

Es wird ein positiver Zusammenhang zwischen dem AQ und dem Pulsatilitätsindex dargestellt. Der Zusammenhang ist nicht signifikant.

**Zusammenhang zwischen Harnsäure und TAK**

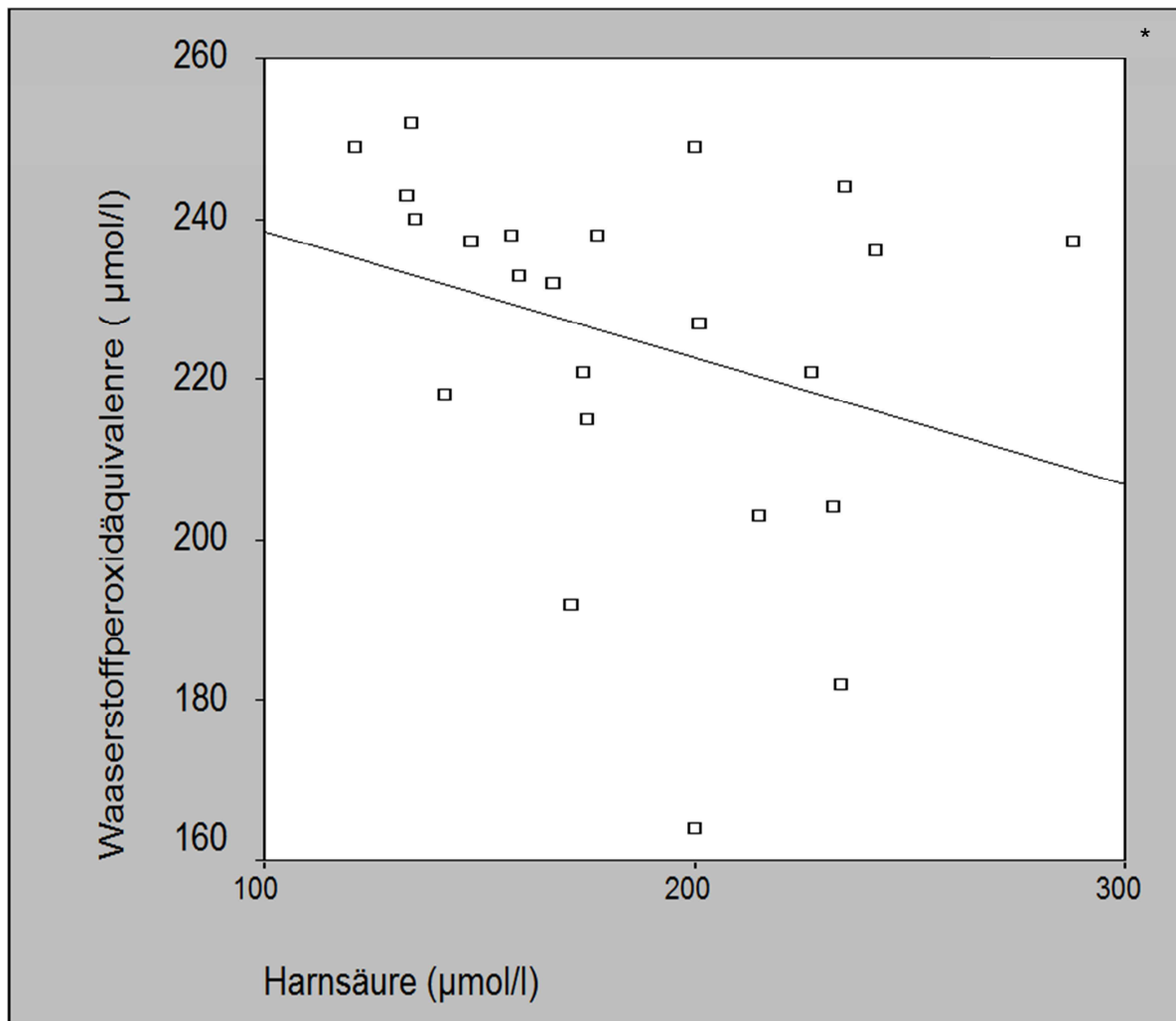


Abb. 4.18

\* Die Korrelation ist auf dem 0,05-Niveau signifikant ( $p < 0,017$ ). Korrelationskoeffizient KK: -0,449.

Hier wird ein negativer Zusammenhang zwischen Harnsäurekonzentration und totaler antioxidativer Kapazität (TAK), gemessen in Wasserstoffperoxidäquivalenten, deutlich. Mit steigender TAK fällt die Harnsäurekonzentration im Plasma.

***Harnsäure als Prädiktor für eine IUGR und/oder PE***

	<b>Regressions- koeffizient B</b>	<b>Standard- fehler</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp(B)</b>
<b>Harnsäure Konstante</b>	-,006 ,811	,010 1,854	,335 ,191	1 1	,563 ,662	,994 2,250

Tabelle 4.6

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*; das bedeutet: Steigt die Harnsäurekonzentration im Plasma um eine Einheit, reduziert sich das Risiko für einen pathologischen Ausgang um 0,99. Harnsäure ist kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang. Der Zusammenhang zwischen Harnsäure und Ausgang ist nicht signifikant.  $p = 0,56$ .

***Der Antioxidative Quotient als Prädiktor für eine IUGR und/oder PE***

	<b>Regressions- koeffizient B</b>	<b>Standard- fehler</b>	<b>Wald</b>	<b>df</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp(B)</b>
<b>AQ Konstante</b>	1,704 -2,485	1,232 1,685	1,911 2,175	1 1	,167 ,140	5,494 ,083

Tabelle 4.7

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*; das bedeutet: Steigt der Antioxidative Quotient um eine Einheit, erhöht sich das Risiko für einen pathologischen Ausgang um das 5,5-fache. Der Antioxidative Quotient ist kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang. Der Zusammenhang zwischen Antioxidativen Quotienten und Ausgang ist nicht signifikant.  $p=0,17$ .

### 4.3 Zusammenfassende Korrelationsberechnungen der Parameter

	Notch	MPO	PMN-E.	PMIT	ImAnOx	AQ	Harnsäure
<b>Notch KK</b> <b>N = 50, Sig.</b>	1	-0,173 0,229	<b>0,359*</b> <b>0,010</b>	<b>0,657**</b> <b>0,000</b>	<b>0,531**</b> <b>0,000</b>	0,012 0,953	-0,032 0,873
<b>MPO</b> <b>N = 50, Sig</b>	-0,173 0,229	1	0,117 0,419	-0,137 0,343	-0,078 0,607	-0,154 0,435	0,121 0,541
<b>PMN-E.</b> <b>N = 50, Sig</b>	<b>0,359*</b> <b>0,010</b>	0,117 0,419	1	0,261 0,067	-0,057 0,709	0,24 0,212	-0,204 0,297
<b>PMIT</b> <b>N = 50, Sig</b>	<b>0,657**</b> <b>0,000</b>	-0,137 0,343	0,261 0,067	1	<b>0,443**</b> <b>0,002</b>	0,225 0,250	-0,267 0,170
<b>ImAnOx</b> <b>N = 46, Sig.</b>	<b>0,531**</b> <b>0,000</b>	-0,078 0,607	-0,057 0,709	<b>0,443**</b> <b>0,002</b>	1	<b>0,669**</b> <b>0,000</b>	<b>-0,449*</b> <b>0,017</b>
<b>AQ</b> <b>N = 28, Sig.</b>	0,012 0,953	-0,154 0,435	0,244 0,212	0,225 0,250	<b>0,669**</b> <b>0,00</b>	1	<b>-0,946**</b> <b>0,000</b>
<b>Harnsäure</b> <b>N = 28, Sig.</b>	-0,032 0,873	0,121 0,541	-0,204 0,297	-0,267 0,170	<b>0,449*</b> <b>0,017</b>	<b>-0,946**</b> <b>0,000</b>	1

Tabelle 4.8.

\* Die Korrelation ist auf dem 0,05-Niveau signifikant (zweiseitig).

\*\* Die Korrelation ist auf dem 0,01-Niveau signifikant (zweiseitig).

KK= Korrelationskoeffizient, Sig. = Signifikanz. Es wird nach Spearman korreliert, da beispielsweise ein notch-Nachweis ordinal ist.

### ***Korrelationen mit signifikanten oder richtungsweisenden Bilanzen***

Mit steigendem ImAnOx-Wert sinkt die Wahrscheinlichkeit, dass ein *notching* der uterinen Gefäße vorliegt.

Auf einen steigenden PMN-Elastase-Spiegel folgt tendenziell unilaterales oder bilaterales *notching*.

Mit steigendem PMIT-Wert erhöht sich die Wahrscheinlichkeit auf ein *notching*.

Der aus ImAnOx- und Harnsäure-Wert berechnete Antioxidative Quotient vergrößert sich mit einem höheren Spiegel an Wasserstoffperoxidäquivalenten (ImAnOx).

Bei erhöhtem Harnsäurespiegel zeigen sich im maternalen Plasma ein signifikant niedriger ImAnOx-Wert und ein niedriger Antioxidativer Quotient.

Es besteht tendenziell ein positiver, aber nicht signifikanter Zusammenhang zwischen PMN-Elastase und MPO, den beiden Enzymen aus den azurophilen Granula der neutrophilen Granulozyten.

Ein tendenziell positiver, aber nicht signifikanter Zusammenhang existiert zwischen PMN-Elastase und erhöhtem Widerstand in den uterinen Gefäßen (PMIT).

Der Zusammenhang zwischen PMIT und Gewicht ist hochsignifikant negativ. Je größer der Widerstand in den uterinen Gefäßen, desto leichter sind die Neugeborenen zum Zeitpunkt der Entbindung.

#### **4.4 Die uterine Dopplersonographie**

### ***Der gemittelte Pulsatilitätsindex und seine prädiktive Wertigkeit, eine IUGR / PE vorherzusagen***

	Regressions- koeffizient B	Standard- fehler	Wald	df	Sig.	Exp (B)
<b>PMIT</b>	1,451	1	2,107	1	0,147	4,268
<b>Konstante</b>	-2,454	1,673	2,152		0,142	0,086

Tabelle 4.9

Die logistische Regression wird verwendet. Exp(B) beschreibt die *odds ratio*; Das Risiko für einen pathologischen Ausgang ist um das 4,27-fache erhöht, wenn der der PMIT-

Wert um eine Einheit ansteigt. PMIT ist kein signifikanter Prädiktor für den Ausgang ( $p = 0,15$ ). Die Tendenz der Wirkrichtung ist wie erwartet positiv: Mit steigendem Pulsatilitätsindex erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass die Schwangere eine IUGR / PE entwickelt.

**Mittelwertvergleich bei Auftreten eines notch (unilateral, bilateral) und ohne Nachweis eines notch**

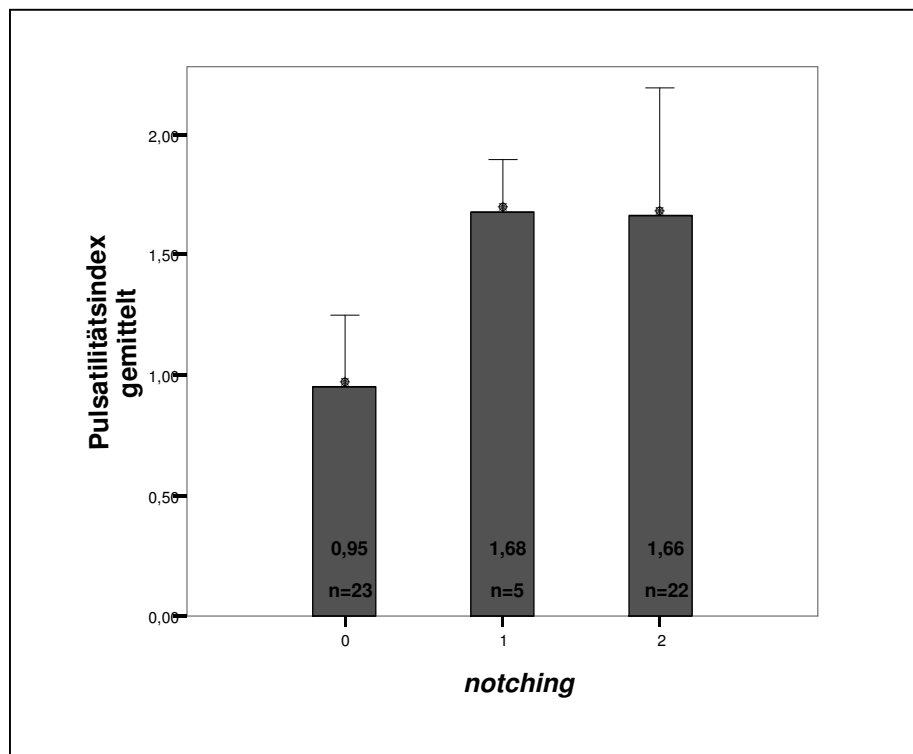


Abb. 4.19

Ohne Notch:  $PI = 0,95 \pm 0,3$  (SD),  $N = 23$ ;

Unilateraler Notch:  $PI = 1,68 \pm 0,22$  (SD),  $N = 5$ ;

Bilateral Notch:  $PI = 1,66 \pm 0,53$  (SD),  $N = 22$ .

**Medianvergleich bei Auftreten eines notch (unilateral, bilateral) und ohne notching in Bezug auf die gemittelten Pulsatilitätsindizes der Aa. uterinae (PMIT)**

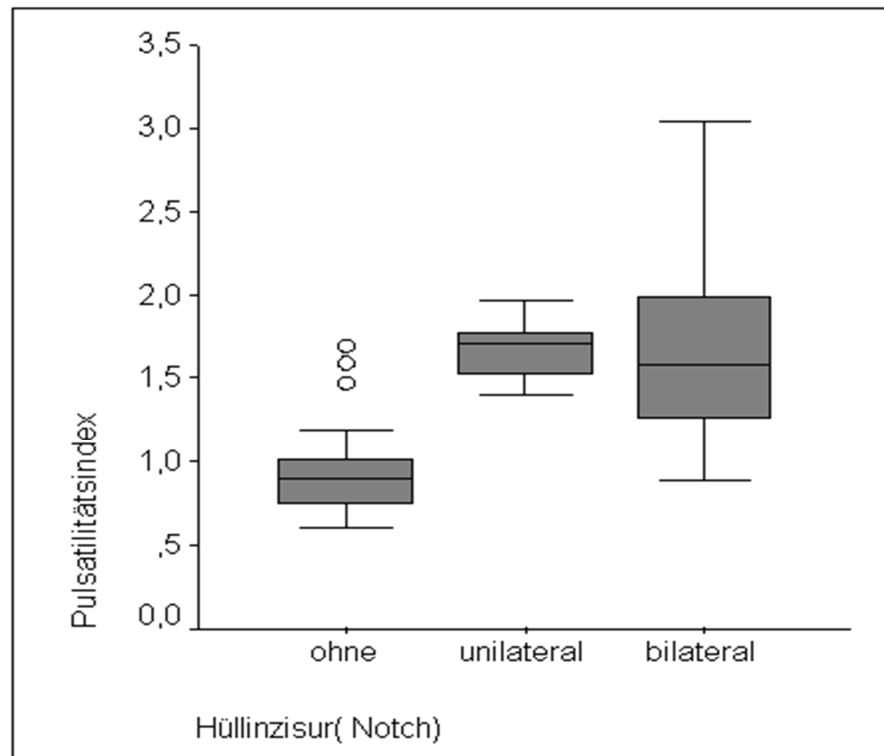


Abb. 4.20

Ohne notch:  $N = 23$ , Mediane PMIT 0,9, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 1,08 und Untergrenze 0,82;

Unilateraler notch:  $N = 5$ , Mediane PMIT 1,71, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 1,95 und Untergrenze 1,41;

Bilateraler notch:  $N = 22$ , Median PMIT 1,58, 95 % Konfidenzintervall des Mittelwertes Obergrenze 1,90 und Untergrenze 1,43.

Die Boxplotdarstellung zeigt, dass das Feld ohne *notch* ein kleineres Konfidenzintervall besitzt als die Gruppe, die ein bilaterales *notching* aufweist. Drei Frauen, die eine Hüllkurve ohne *notch* aufweisen, werden zu den Ausreißern gezählt. Zwar ist der Median in der Gruppe mit unilateralem *notch* größer als in der Vergleichsgruppe mit bilateralem *notch*. In dieser Studie wiesen nur fünf untersuchte Frauen einen unilateralen *notch* auf.

***Prädiktive Wertigkeit der gemittelten Pulsatilitätsindizes in Bezug auf das Geburtsgewicht***

<b>Gruppe</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>N</b>	<b>SD</b>
<b>Kontrollgruppe</b>	3705,00 g	8	766,774 g
<b>Perfusionsstörung</b>	2660,74 g	27	958,509 g
<b>Insgesamt</b>	2899,43 g	35	1010,717 g

Tabelle. 4.10

Von 35 untersuchten Frauen war das Outcome der Schwangerschaft bekannt. Schwangere mit Perfusionsstörung waren für die Untersuchung besonders von Interesse, da die Risikostratifizierung mittels Doppler und kombiniert mit Markern der neutrophilen Aktivität und der antioxidativen Kapazität im Fokus stand.

<b>Modell</b>	<b>R</b>	<b>R-Quadrat</b>	<b>Korrigiertes R-Quadrat</b>	<b>Stf. des Schätzers</b>
1	0,539(a)	0,290	0,269	864,336

Tabelle 4.11

*Einflussvariablen : Konstante= PMIT;*

*Abhängige Variable: „GEWICHT“ Geburtsgewicht;*

*$R^2$  = Anteil erklärter Varianz.*

29 % der Varianz im Geburtsgewicht sind mittels des PMIT-Wertes erklärbar. Die Varianz bei empirischen Daten von quantitativen Merkmalen ist die mittlere quadratische Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert, d.h. sie ist die erwartete quadratische Abweichung der Zufallsvariablen von ihrem Erwartungswert (erwartetes Geburtsgewicht). Die Berechnung der linearen Regression erfolgt, um zu bestimmen, wie genau das Geburtsgewicht durch den Pulsatilitätsindex vorhersagbar ist.



Modell		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standard. Koeffizienten	T	Signifikanz
		B	Stf.	Beta		
1	Konstante	4453,476	447,608		9,949	,000
	PMIT	-1045,391	284,610	-,539	-3,673	,001

Tabelle 4.12

Abhängige Variable: „GEWICHT“ = Geburtsgewicht

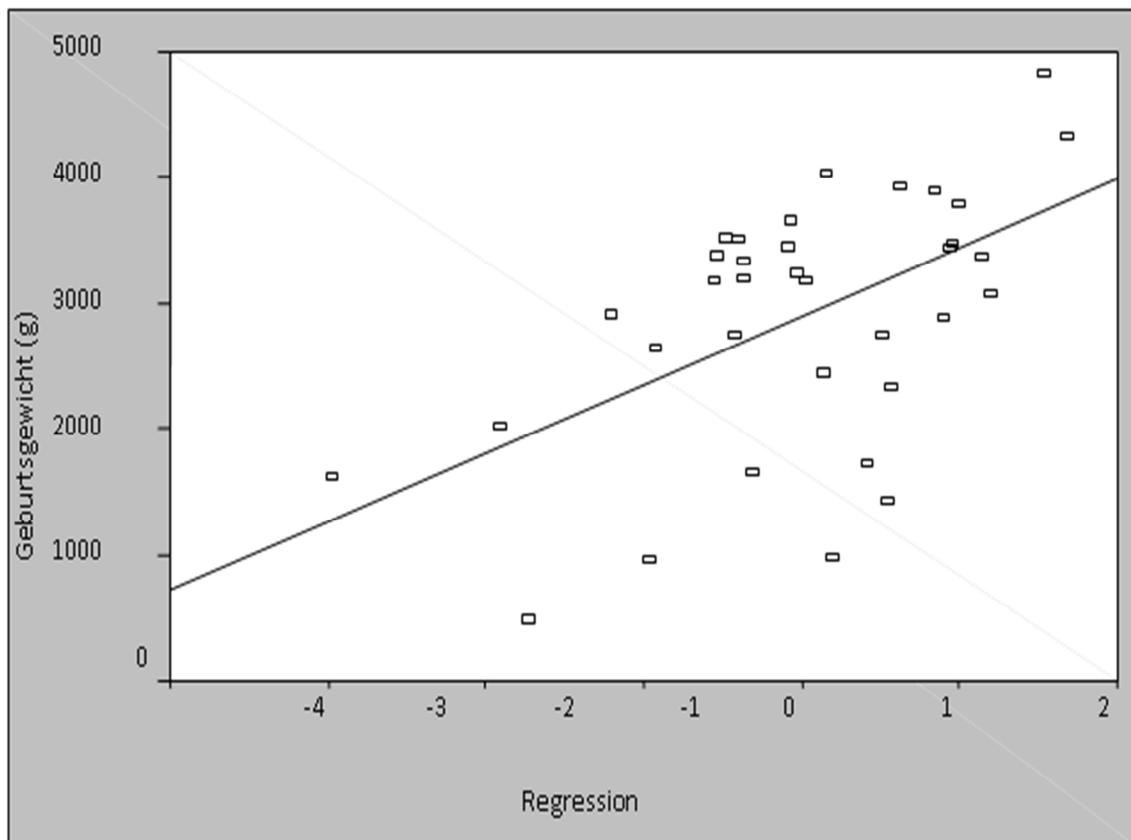


Abb. 4.21

Das vorhergesagte Geburtsgewicht berechnet sich aus der Gleichung wie folgt, bzw. die Regressionsgerade wird durch die beschriebene Formel berechnet:

- $\text{Gewicht} = \text{Konstante} + \text{PMIT} \times B$
- $\text{Gewicht} = 4453 \text{ Gramm} + \text{PMIT} \times (-1045 \text{ Gramm})$
- Beispiel: Gemessen wird ein PMIT - Wert von 2.
- Das voraussichtliche Gewicht wird dann wie folgt berechnet:  
 $4453 \text{ Gramm} - (2 \times 1045 \text{ Gramm}) = 2363 \text{ Gramm}$

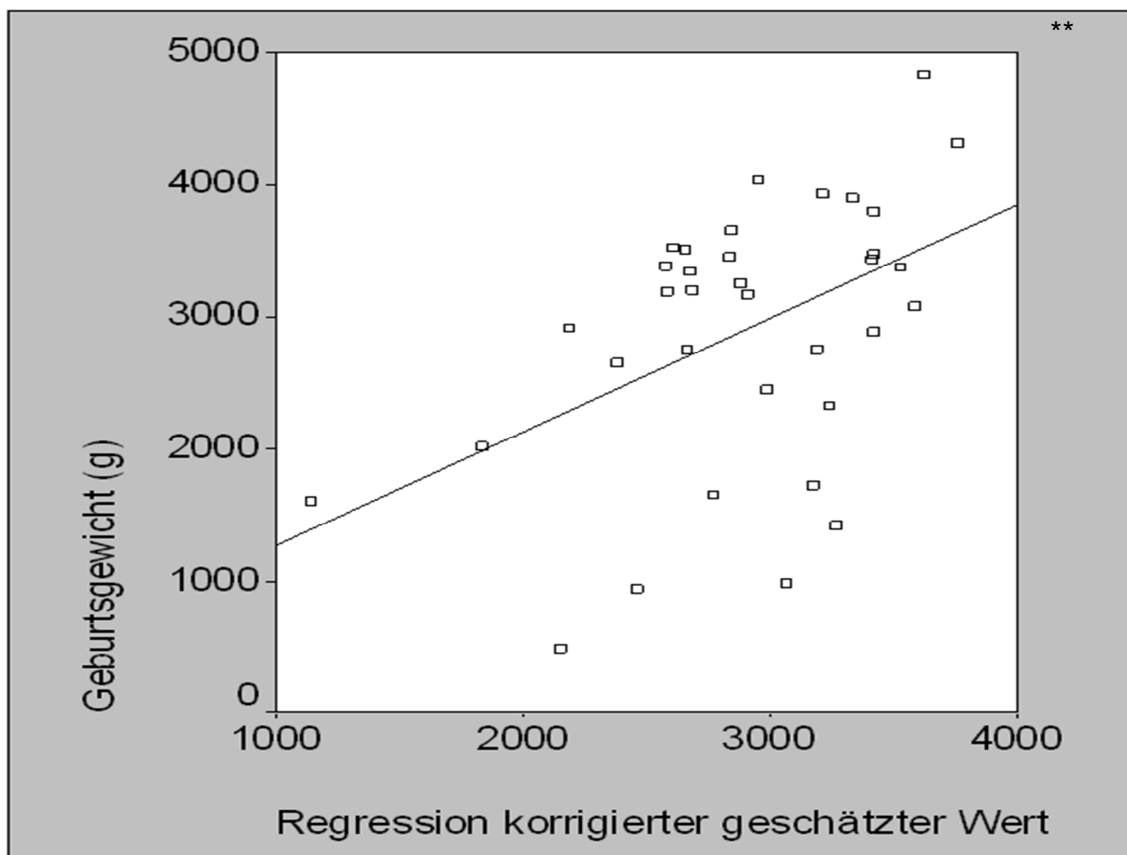


Abb. 4.22

**\*\*** Die Korrelation ist auf dem 0,01-Niveau signifikant ( $p < 0,01$ ).

Stellt man die vorhergesagten Geburtsgewichte den tatsächlichen gegenüber, wird deutlich, wie genau das Modell schätzt. Unterstellt wird ein linearer Zusammenhang, der die Realität allerdings nur unzulänglich wiedergibt. Der Pulsatilitätsindex ist hochsignifikant, d. h. PMIT hängt sehr deutlich mit dem Geburtsgewicht zusammen.

## 5 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, die Stellung der neutrophilen Aktivität und des oxidativen Stresses in der pathophysiologischen Folge der Entwicklung der Schwangerschaftserkrankungen IUGR und PE zu untersuchen und somit herauszufinden, ob sie einen bedeutenden pathophysiologischen Faktor darstellen, oder ob sie lediglich Teil einer Reihe von multiplen Sekundäreffekten dieser Multiorganerkrankung sind.

Das aktuell diskutierte Modell zur Entstehung der PE und IUGR beschreibt eine unvollständige Trophoblastinvasion in die Spiralarterien, wodurch die Gefäßdilataion des uteroplazentaren Kreislaufs ausbleibt.

Dieser Prozess findet allerdings im ersten Trimenon statt und ist klinisch nicht nachweisbar. Die klinische Manifestation der PE und IUGR in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft als Folge der uteroplazentaren Insuffizienz wird von einer Vielzahl gut untersuchter lokaler und systemischer Veränderungen begleitet. Dennoch ist es noch immer nicht möglich zu erklären, was im Zeitraum zwischen der unvollständigen Trophoblastinvasion und der manifesten Erkrankung geschieht (Dekker et al. 1998, van Wijk et al. 2000, Dietl et al. 2000, Roberts et Hubel 2009, Wang 2009).

Zunächst zeigt Tabelle 4.1, dass meine Probandinnen klinische Eigenschaften aufweisen, die auch in der Literatur wiedergegeben werden.

### 5.1 Uterine Perfusionsdiagnostik

Für Feten, deren Mütter eine pathologische uterine Perfusion aufweisen, zeigen diese Untersuchungen ein signifikant geringeres Geburtsgewicht. In Abb. 4.22 werden die durch Regressionsberechnung vorausgesagten den tatsächlich erreichten Geburtsgewichten gegenübergestellt. Durch die hier vorliegenden Untersuchungen wird deutlich, dass der gemittelte Pulsatilitätsindex hochsignifikant mit dem Geburtsgewicht korreliert. Mit der Formel der linearen Regression lässt sich über den gemittelten PI sogar das Geburtsgewicht teilweise voraussagen, 29 % der Streuung des Geburtsgewichts sind durch den Gefäßwiderstand der uterinen Arterien erklärbar.

Die klinische Wertigkeit der uterinen Perfusionsdiagnostik und ihre prognostische Aussagekraft in Bezug auf die Entwicklung einer Schwangerschaftserkrankung wie Präeklampsie oder IUGR wird in den Studien unterschiedlich bewertet, da sich die jeweilige Messmethodik, die Definition einer pathologischen uterinen Perfusion, der Zeitpunkt der Messung sowie die untersuchte Population zum Teil deutlich voneinander unterscheiden. Cnossen konnte in seiner Metaanalyse bestätigen, dass der PI der uterinen Gefäße eine gute Vorhersagbarkeit für die IUGR darstellt (2008). Die Spezifität des Pulsatilitätsindex wurde in seiner Metaanalyse mit einer Gesamtstichprobe von 38.230 Frauen mit 91 % berechnet; die Sensitivität betrug nur 42 %. Bei schwerer Präeklampsie kam es mit einer Fallzahl von 15.392 Frauen zu einer Verbesserung der Sensitivität auf 78 %. Die hohe Spezifität der Perfusionsdiagnostik lässt erkennen, dass bei unauffälliger uteriner Perfusion die Wahrscheinlichkeit sehr gering ist, eine PE oder IUGR zu entwickeln.

Aus diesem Grunde wurde in diesem Studiendesign das Follow-up vorwiegend auf Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion beschränkt (N=27 vs. N= 8; vgl. Tabelle 4.10). Da in der Literaturschau deutlich wird, dass die Vorhersagbarkeit der früh auftretenden (*early onset*) und der schweren Präeklampsie besser gelingt als in der Gruppe mit den mildereren Verläufen, könnten von einer Differenzierung der „pathologischen Gruppe“ andere Ergebnisse erwartet werden. Die Fallzahl meiner Studie ist aber nicht ausreichend, um valide Aussagen in dieser Richtung zu treffen.

Zurzeit ist keine etablierte Methode für eine frühe Vorhersage von Schwangerschaftserkrankungen wie IUGR und PE vorhanden. Die dopplersonographische Messung der uterinen Perfusion ist eine nicht invasive und nützliche Methode, um Frauen zu identifizieren, deren Risiko, diese Schwangerschaftskomplikationen zu entwickeln, erhöht ist (Chien et al. 2000, Papageroghiou et al. 2001, Faas et Schuiling 2001, Cnossen et al. 2008). Damit ist die pathologische uterine Perfusion indirekt das erste und wichtigste Indiz für die gestörte Trophoblastinvasion (Dekker et al. 1998, Redman et al. 1999). Cnossen konnte nachweisen, dass ein erhöhter PI mit *notch* im zweiten Trimenon im Vergleich zu anderen verwendeten Indizes zur Messung der uterinen Perfusion die beste Vorhersage für Hochrisikopatienten wie für Patienten mit einem niedrigen Risiko treffen konnte.

Insbesondere durch den erhöhten PI oder den beidseitig vorhandenen *notch* konnten die besten Voraussagen für eine schwere Präeklampsie getroffen werden. Bei Patienten mit geringerem Risiko konnte der PI allein oder in Kombination mit *notch* die beste Voraussage für eine schwere intrauterine Wachstumsretardierung bereitstellen. Bei Hochrisikopatienten traf Cnossen mittels des RI die bessere Vorhersage für eine IUGR (Cnossen et al 2008).

Dagegen behaupteten andere Studien, dass die Dopplersonographie für die IUGR und PE keine ausreichende Vorhersage treffe (Chien 2000, Papageorghiou 2002, Conde-Agudelo 2004). Chien beschränkte sich aber beispielsweise auf Studien, die bis 1997 publiziert wurden, und Papageorghious Studie untersuchte Patienten ohne spezifische Risiken in Veröffentlichungen bis 2001. In den letzten Jahren wurde aber erst deutlich, dass eine Risikoselektion durchaus die Dopplervorhersage verbessert (Cnossen et al. 2008). Paretti konnte bei einer seriellen Doppler-Untersuchung der uterinen Arterien in der 16., 20. und 24. SSW eine Sensitivität von 88 % und eine positive Vorhersage von 62 % nachweisen. Er berücksichtigte aber nur den Resistenzindex und bezog nur Frauen in seine Population ein, die in der Anamnese Risikofaktoren wie vorangegangene Präeklampsie, vorzeitige Plazentalösung und IUGR aufwiesen. Raucherinnen, Frauen mit koronaren Herzerkrankungen, Diabetes mellitus, Mehrlingsgravidität, laufender ASS-Therapie sowie mit Vorliegen einer fetalen Chromosomenanomalie schloss Paretti aus seiner Studie aus (Paretti et al. 2003).

Martin wies durch Dopplersonographie in der 11. bis 14. SSW mit Bestimmung des PI ebenso Möglichkeiten der frühen Risikostratifizierung auf (Martin et al. 2001).

Harrington führte eine transvaginale Dopplersonographie in der 15. SSW durch und interpretierte das *notching* als Marker für eine Perfusionsstörung (Harrington et al. 1997). In einer anderen Studie konnte Harrington nachweisen, dass der prognostische Wert des Dopplerprofils in einem Kollektiv von Multipara mit Risiken wie chronischer Hypertonie, vorangegangener Präeklampsie, Gestationshypertonie, IUGR, Frühgeburt, Abort, intrauterinem Fruchttod, Diabetes mellitus und Nierenfunktionsstörung besonders hoch ist (Harrington et al. 2004). Mit früheren Studien, deren Kollektive keine spezifischen Risiken aufwiesen, konnte er keine entsprechend gute Voraussage durch die Dopplersonographie treffen (Harrington et al. 1991 und 1997).

Die Vorhersagbarkeit für das tatsächliche Auftreten der Erkrankung durch die Dopplersonographie variiert wie bereits angedeutet in Abhängigkeit von den jeweils zu untersuchenden Indizes, dem Patientenkollektiv und der Definition einer pathologischen uterinen Perfusion (Cnossen et al. 2008). Ich konnte in dieser Studie bestätigen, dass sich mit steigendem PI häufiger ein *notch* darstellt, was per definitionem zur uterinen Perfusionsstörung gehört ((Stepan Dopplersonographie 2007a) (Abb. 4.19 und Abb. 4.20).)

## 5.2 Allgemeine Parameter des untersuchten Kollektivs

Parameter wie Alter, Parität und Entbindungswoche zeigen keinen signifikanten Unterschied in den beiden untersuchten Gruppen. In der Literatur werden Nulliparität und Altersextreme unter anderem als mögliche Risikofaktoren diskutiert (Roberts et al. 2001, Sibai et al. 1995, Stone et al. 1994, Roberts 2009).

Das relative Risiko, an Präeklampsie zu erkranken, beschreiben Verlohren und Dudenhausen in folgender Reihenfolge: Antiphospholipidsyndrom, vorangegangene PE, Body-Mass-Index > 35, präexistenter Diabetes mellitus, familiäre Belastung, Erstparität, Alter > 40 Jahre, chronische Hypertonie, Autoimmunerkrankungen (z.B. systemischer Lupus) und Thrombophilie (Verlohren et Dudenhausen 2009).

Aufgrund des Studiendesigns konnten in dieser Arbeit keine diesbezüglichen Aussagen getroffen werden. So wurden beispielsweise Risikofaktoren, wie vorher bestehender Bluthochdruck oder Mehrlingsgravidität, in dieser Studie von vornherein ausgeschlossen.

In Tabelle 4.2 werden die Patientinnen mit pathologischer uteriner Perfusion beschrieben, die anschließend eine Schwangerschaftskomplikation entwickelten. Hier wurden sowohl Schwangere mit IUGR als auch mit PE zusammengefasst. Auffällig ist, dass fünf von elf Patientinnen eine Frühgeburtlichkeit aufweisen und dass lediglich fünf Neugeborene ein Geburtsgewicht von über 2.500 g aufweisen. Die Präeklampsie kann mit und ohne IUGR klinisch präsent werden. In einem Fall ist die Mutter erkrankt und zwingt zu Intervention, im anderen Fall begründet die fetale Kondition die vorzeitige Entbindung. Iatrogene Frühgeburten sind deshalb häufig (Stepan et Jank 2009).

### 5.3 Prädiktive Wertigkeit der untersuchten Parameter

Zeigt die hier vorliegende Studie Ansätze, um das Risikokollektiv früher zu identifizieren? In Tabelle 4.8 wird die positive, aber nicht signifikante Wirkrichtung des Parameters PMIT für den Schwangerschaftsausgang deutlich. Mit steigendem Pulsatilitätsindex steigt tendenziell, aber nicht signifikant die Wahrscheinlichkeit eines schlechten Ausgangs, d.h. die Wahrscheinlichkeit, eine PE und/oder IUGR zu entwickeln. Die Literaturschau zeigt, dass es mittels uteriner Perfusionsmessung gelingt, besonders die Frauen zu identifizieren, die eine schwere Form der Präeklampsie entwickeln (Cnossen et al 2008). Da ich aber nur die Erkrankungshäufigkeit an Präeklampsie bzw. IUGR ausgewertet habe, ist dieser Widerspruch zur aktuellen Studienlage nachvollziehbar.

### 5.4 Enzyme aus den azurophilen Granula der neutrophilen Granulozyten zur Vorhersage der Präeklampsie und/oder IUGR

Da für die Entstehung von IUGR und PE eine Vielzahl von Hormonen, Enzymen und Metaboliten diskutiert wurden, die zum Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung lokal oder systemisch im mütterlichen Plasma verändert sind, war es naheliegend, Enzyme der neutrophilen Granulozyten und einen Antioxidantienstatus im mittels Dopplersonographie ermittelten Risikokollektiv zu untersuchen (Mellembakken et 2001, Butterworth et al 1991, Roberts et Hubel 1999).

Anhand der im Plasma gemessenen Enzyme PMN-Elastase und Myeloperoxidase war keine signifikante Risikoeinschätzung möglich (Tabellen. 4.3 und 4.4).

In Abbildung 4.1 wird dargestellt, dass es bei unserer Untersuchung keine signifikanten Unterschiede der Konzentration an Myeloperoxidase im Plasma Schwangerer mit uteriner Perfusionsstörung im zweiten Trimenon im Vergleich zu gesunden Schwangeren gab. Zwischen dem Pulsatilitätsindex und den Konzentrationen an Myeloperoxidase und PMN-Elastase konnte keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden (Abb. 4.5 und Abb. 4.8, Tabelle. 4.8).

Da sowohl bei der PMN-Elastase als auch bei der MPO von Enzymen der neutrophilen Granulozyten ausgegangen wird, ist die leicht positive Korrelation zwischen den beiden Parametern erklärbar; sie ist aber nicht signifikant (Abb. 4.10). Meinen Ergebnissen nach zu urteilen, sind Marker für neutrophile Aktivität noch nicht messbar, wenn die ersten morphologischen Veränderungen auftreten.

In Abbildung 4.3 und 4.9 werden zwei Fälle exemplarisch dargestellt, bei denen die MPO- und PMN-Elastase-Konzentrationen im Plasma konsekutiv gemessen wurden. Wie auch schon frühere Studien (Haeger et al. 1992, Butterworth et al. 1991) zeigen die zwei Beispiele, dass Patientinnen mit klinischer Manifestation der Erkrankung erhöhte Konzentrationen an MPO und PMN-Elastase aufweisen. Unsere Fallbeispiele zeigen eine PE-Entwicklung und eine IUGR-Entwicklung, wobei zum Zeitpunkt der Dopplersonographie im zweiten Trimenon die Konzentrationen an MPO und PMN-Elastase im Plasma noch nicht erhöht sind, dann aber mit Ausbildung des klinischen Vollbildes ansteigen.

Da gezeigt wurde, dass die Plasmakonzentration der beiden Enzyme unabhängig vom Schwangerschaftsalter ist, wird vermutet, dass die Erhöhung nur ein Begleitsymptom der Erkrankungen ist, die sich an zahlreichen Organen manifestieren und von einer systemischen Entzündungsreaktion begleitet werden. Es kann dabei ausgeschlossen werden, dass die Erhöhung der Enzymwerte mit dem Fortschreiten einer normalen Schwangerschaft an sich einhergeht (Haeger et al. 1992, Butterworth et al. 1991). Meine Beobachtung bestätigt frühere Studien, die gezeigt haben, dass die PE und IUGR mit erhöhten MPO- und PMN-Elastase-Konzentrationen assoziiert sind und dass diese Erkrankungen sowohl durch eine lokale als auch durch eine systemische Entzündungsreaktion charakterisiert sind (Redman et al. 1999, Redline et al. 1993, Hammer et al. 2001).

Verschiedene Untersuchungen zeigten zudem, dass die Expression von Entzündungsmediatoren bei Schwangeren mit PE im Vergleich zu gesunden Schwangeren signifikant erhöht ist. Es ist anzunehmen, dass ihre Aktivierung durch die von den Trophoblasten freigesetzten Zytokine verursacht wird. Auch die mehrfach beschriebene Endothelschädigung wurde als Verstärkung der Entzündungsreaktion beschrieben (Dekker et Sibai 1998, Taylor et al. 1998, Walker 1998, Siddiqui 2010a).



In den Tabellen 4.3 und 4.4 wird durch die Berechnung der *odds ratio* deutlich, dass die Vorhersagbarkeit weder durch die Messung der PMN-Elastase noch der MPO verbessert wird. Die Entzündungsreaktion ist demnach ein sekundäres Phänomen dieser Erkrankungen, welches eher als Resultat für vorhergehende pathologische Veränderungen anzusehen ist, als dass sie die Ursache oder auch nur ein bedeutender Entwicklungsfaktor für die Entstehung der PE bzw. IUGR ist.

Rath beschreibt in einer Übersichtsarbeit, dass die Langzeitprognose für Frauen mit einer schweren Präeklampsie in der Schwangerschaft und im Wochenbett deutlich erhöhte relative Risiken für chronische Hypertonie (RR 3,7 Follow-up 14 Jahre), ischämische Herzerkrankung (RR 2,16 Follow-up 11,7 Jahre), Apoplex (RR 1,81 Follow-up 10,4 Jahre) und maternale Letalität (RR 1,49 Follow-up 14,5 Jahre) zeigen (Rath und Fischer 2009, Bellamy et al. 2007). Die Myeloperoxidase wird als relevanter Faktor für die Pathogenese der Koronaren Herzerkrankungen (KHK) diskutiert. Patienten mit Angina pectoris und initial hoch gemessenem MPO-Plasmaspiegel hatten ein signifikant höheres Risiko für eine myokardiale Ischämie. Wurden bei gesunden Patienten erhöhte MPO-Plasmaspiegel gemessen, so war die MPO ein guter Prädiktor für das Auftreten einer späteren KHK (Friedrich 2010). Für die Präeklampsie wurde anhand meiner MPO Spiegelmessung weder eine signifikante Risikobeurteilung möglich noch konnte ich einen signifikanten Zusammenhang mit der Erhöhung des uterinen Perfusionswiderstandes beschreiben.

### 5.5 Antioxidative Kapazität des Plasmas zur Risikostratifizierung

Oxidativer Stress wurde ebenfalls als ein bedeutender pathophysiologischer Faktor für Schwangerschaftserkrankungen diskutiert, welche mit einer fehlenden Trophoblastinvasion einhergehen. Es stellte sich die Frage, ob Marker des oxidativen Stresses schon vor dem Auftreten der Erkrankung messbar sind. Der in vorliegender Studie angewandte einfache Test zur Messung der totalen antioxidativen Kapazität bot sich gut zur Kombination mit der Dopplersonographie im Hochrisikokollektiv an. Die Messung der TAK im Plasma Schwangerer erfolgte mit einem einfachen photometrischen Test. Auf diese Weise konnte ich nachweisen, dass bei Frauen mit uteriner Perfusionsstörung im zweiten Trimenon eine Minderung der totalen antioxidativen Kapazität im Kreislauf vorliegt (Abb. 4.11 und 4.12).

Dieses Ergebnis könnte ebenso durch eine unzureichende Produktion von Substanzen mit antioxidativen Eigenschaften verursacht sein wie durch eine erhöhte Konzentration an *Reactive Oxygen Species* (ROS) mit einem erhöhten Verbrauch von Antioxidantien. Diese Beobachtung ist bei Schwangeren, die später eine PE oder IUGR entwickeln, nicht überraschend. Es gibt Studien, die beschreiben, dass oxidativer Stress ein relevanter pathophysiologischer Faktor für die genannten Erkrankungen ist (Hubel et al. 1999, Roberts et Hubel 1999, Roberts et Hubel 2009, Wang et al. 2009, Siddiqui et al. 2010a). Daher stellt sich die Frage, ob Marker für oxidativen Stress bereits vor der klinischen Erscheinung der hier untersuchten Erkrankungen messbar sind. Wäre dies der Fall, könnte für Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion ein oxidativer Status erhoben werden, der eine klinisch anwendbare Ergänzung zur Dopplersonographie darstellt.

Zwar kann ich mit den Abbildungen 4.11 und 4.12 einen signifikanten Unterschied der Reaktion des maternalen Plasmas auf Wasserstoffperoxid zwischen den zu untersuchenden Gruppen darstellen. Meine Ergebnisse zeigen jedoch keine verbesserte Vorhersagbarkeit des Dopplers für PE und IUGR durch die Kombination mit der Messung der totalen antioxidativen Kapazität des Plasmas der Patientinnen unserer definierten Risikogruppe. Es gab ebenso Schwangere mit pathologischer uteriner Perfusion und einer verminderten TAK, deren Schwangerschaftsverlauf unauffällig verlief. Tabelle 4.5 zeigt, dass durch die Bestimmung der TAK keine bessere Vorhersage für unsere Schwangerschaftserkrankungen vorgenommen werden kann.

Die Berücksichtigung von Harnsäure als wichtiges Antioxidans, dessen Erhöhung ebenfalls in Zusammenhang mit den hier beschriebenen Schwangerschaftserkrankungen gebracht wird, und der TAK habe ich in Form des antioxidativen Quotienten (AQ) ins Verhältnis zum Pulsatilitätsindex gesetzt. Es konnte aber kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Die TAK alleine korreliert mit dem PI signifikant negativ. Wird aus TAK und Harnsäure der AQ erstellt, ist dieser Zusammenhang nicht mehr gegeben (Abb. 4.16). Eine signifikante Korrelation konnte zwischen Harnsäurekonzentration und Wasserstoffperoxidäquivalenten (ImAnOx) nachgewiesen werden (Abb. 4.18 und Tabelle 4.8): Mit steigender TAK fällt die Harnsäurekonzentration im Serum.

Die kompensatorische Erhöhung der Harnsäure als potentes Antioxidans bei vorhandenem oxidativen Stress ist bekannt (Llurba et al 2004, Chappell 2002 b).

Aufgrund der guten Spezifität der Dopplersonographie wurde in dieser Studie bereits eine gute Selektion des Kollektivs vorgenommen, so dass zur weiteren Differenzierung der TAK die Harnsäurebestimmung hinzugezogen wurde. Mein Interesse lag besonders auf der Verbesserung der frühen Risikostratifizierung; folglich wurde darauf verzichtet, auch für die Kontrollgruppe eine Harnsäurebestimmung vorzunehmen.

Der Antioxidative Quotient, der sich aus der Division der Wasserstoffperoxidäquivalente und der Harnsäurekonzentration berechnet, macht es möglich, den für die Präeklampsie diskutierten Faktor Harnsäure bei der Betrachtung der TAK als globale Einheit einordnen zu können.

Die Bestimmung der Harnsäure konnte – wie auch in der Literatur – die Vorhersage nicht verbessern (Tabelle 4.6). Thangaratinam zeigte 2006, dass die Harnsäuremessung im Plasma weder für IUGR noch für die PE eine verbesserte Voraussage ermöglicht (Thangaratinam et al. 2006).

Die Auswertung der einschlägigen Fachliteratur legt nahe, dass die Erhöhung der antioxidativen Kapazität bei Patientinnen mit Präeklampsie durch einen erhöhten Harnsäurespiegel im Plasma zu erklären ist. Die anderen wichtigen Komponenten für TAK wie Vitamin C und E scheinen dagegen in verringerter Konzentration im Plasma bei Präeklampsie vorzuliegen (Kharb 2000d, Chappell 2002). Als mögliche Ursachen für den erhöhten Harnsäurespiegel bei den Präeklampsie-Patientinnen wird eine gestörte Nierenfunktion angeführt (Dunlop et Davison 1977, Redman et al. 1976, Redman et Bonnar 1978). Andere Arbeitsgruppen vermuten eine erhöhte Xanthinoxidase-Aktivität als Ursache (Hubel 1999, Many et al. 1996, Nemeth et al. 2002).

Die Messung der antioxidativen Gesamtkapazität bietet sich an, um die Einwirkung und die Reaktion des Körpers auf oxidativen Stress zu beurteilen. Nicht nur bei Schwangeren, sondern auch bei Neu- und Frühgeborenen wurde diese Methode bereits eingesetzt. Lindemann konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ausmachen. Die Frühgeburtlichkeit wurde in dieser Studie jenseits der 32. SSW angesetzt (Lindemann et al. 1989).

Miller hingegen wies in seiner Studie eine signifikant verminderte antioxidative Kapazität im Plasma von Frühgeborenen nach, die vor der 32. SSW geboren wurden (Miller et al. 1993). Auch die maternale TAK im Plasma wies bei Müttern Frühgeborener signifikant niedrigere Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe von Müttern mit Reifgeborenen auf. Diese Ergebnisse lassen auf ein Defizit Frühgeborener schließen, das maternal und fetal messbar ist.

Patil konstatiert, dass die Präeklampsie durch erhöhten oxidativen Stress und verminderten antioxidativen Schutz gekennzeichnet ist (Patil et al 2009).

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die gesamte antioxidative Kapazität des Plasmas präeklaptischer Patientinnen zeigen bis auf eine Ausnahme eine Erhöhung der TAK, was mit einer Erhöhung des Harnsäurespiegels präeklaptischer Patientinnen erklärt wird. Diese Erhöhung könnte durch eine eingeschränkte Nierenfunktion, aber auch durch eine durch Plazentahypoxie bedingte Aktivierung von Xanthinoxidase verursacht werden (Kharb 2000c, Poranen et al. 1996, Uotila et al. 1994, Llubra et al 2004).

Betont wird, dass Harnsäure ein potentes Antioxidans ist, das vermutlich kompensatorisch im Organismus präeklaptischer Frauen ansteigt, um oxidativen Schaden zu begrenzen (Llubra et al 2004). Gleichzeitig wird die Hyperurikämie als guter prädiktiver Marker für kardiovaskuläre Ereignisse diskutiert (Verdecchia et al 2000). Jendryczko wies eine verminderte TAK nach, allerdings in einem Kollektiv von bereits an Eklampsie erkrankten Frauen (Jendrycko et Tomala 1995). Schulze untersuchte im Jahr 1998 Schwangere in Zimbabwe und stellte bei Messung eines totalen antioxidativen Status' der Frauen, die später eine PE entwickelten, keine Unterschiede zur Kontrollgruppe mit unauffälligem Schwangerschaftsausgang fest. Bei manifester Präeklampsie war der antioxidative Status aber signifikant höher als in der Kontrollgruppe (Schulze 1998). Ebenso wurde bei Davijani eine erhöhte antioxidative Kapazität bei manifester PE gemessen (Davijani 2005).

Wieder muss darauf verwiesen werden, dass meine Messungen zu einem anderen Zeitpunkt im Schwangerschaftsverlauf stattfanden. Die Blutentnahmen erfolgten nicht, wie in den meisten anderen Studien, zum Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung,

sondern zum Zeitpunkt der gestörten Perfusion im zweiten Trimenon. Die unzureichende uteroplazentare Durchblutung scheint also in dieser Situation die verminderte TAK des Plasmas zu verursachen. Diese These wird durch die negative Korrelation des gemittelten Pulsatilitätsindex mit der TAK ohne Berücksichtigung des klinischen Verlaufs bestätigt (Abb. 4.13 und Tabelle 4.5).

Wie kann aber der erhöhte Perfusionswiderstand die Balance zwischen freien Radikalen und Radikalfängern verändern? Für das Gehirn konnte nachgewiesen werden, dass chronische Minderdurchblutung den Glutathiongehalt, ein wichtiger antioxidativer Faktor, signifikant vermindert (Tanaka et al. 2002). Am Tiermodell konnte bei einer renalen Minderdurchblutung eine verminderte Aktivität der Radikalfänger sowie niedrigere Konzentrationen an Vitamin C und E, d.h. vermehrter oxidativer Stress durch unzureichende Durchblutung nachgewiesen werden (Chade et al. 2002). Sowohl für die Präeklampsie als auch für die IUGR konnte demonstriert werden, dass Komponenten wie Ascorbinsäure im mütterlichen Serum reduziert waren (Chappell et al. 2002a, Mikhail et al. 1994). Yoder schreibt 2009, dass Frauen mit Präeklampsie sowohl niedrigere Aktivitäten an antioxidativen Enzymen aufweisen als auch geringere Konzentrationen an Vitamin E (Yoder et al. 2009).

Untersuchungen folgten, bei denen beobachtet werden konnte, dass eine Substitution von Vitamin C und E die Präeklampsierate reduziert (Bowen et al. 2001). Scalera inkubierte gesundes maternales Serum mit humanen endothelialen Zellen der Vena umbilicalis und konnte nachweisen, dass dadurch oxidativer Stress in den humanen endothelialen Zellen reduziert wurde. Er vermutet, dass gesundes Serum Faktoren beinhaltet, die oxidativen Stress vermindern (Scalera et al. 2002). Als weiterer therapeutischer Ansatz wurde Vitamin C zur Verminderung des oxidativen Stresses von Schwangeren mit IUGR intravenös injiziert (Karowicz-Bilinska et al. 2002). Im maternalen Plasma konnte nach zehn Tagen eine signifikante Reduktion der MDA und der Lipidperoxid-Konzentrationen berechnet werden. Zur Verringerung des oxidativen Stresses bei zu früh geborenen Säuglingen wurde den Müttern oral ein Mix aus Vitamin C und E sowie Betakarotin appliziert. Die Konzentration der MDA im Plasma war sowohl bei der Mutter wie auch bei den Neugeborenen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit Placebobehandlung deutlich niedriger (Bolisetty et al. 2002).

Studien zur Therapie mit Vitaminen wurden auch bei präeklampsischen Frauen durchgeführt. So wurde der Effekt von Vitamin E und die Kombinationstherapie von Vitamin C mit Vitamin E untersucht (Gulmezoglu et al. 1997, Stratta et al. 1994). Beide Studien konnten keine Verbesserung des Schwangerschaftsausgangs der behandelten Patientinnen feststellen. Die Arbeitsgruppen wiesen darauf hin, dass eine frühzeitige Behandlung noch vor Einsetzen der Symptome eventuell eine Verbesserung des Ausgangs bewirken könnte.

Chappell konnte bei einer täglichen Substitution von 1000 mg Vitamin C und 400 IU Vitamin E in einem durch die Dopplersonographie ermittelten Risikokollektiv in der 24. SSW die Prävalenz der PE von 17 % auf 8 % in der Behandlungsgruppe vermindern (Chappell et al. 1999). Antioxidantien wie Vitamin C, Leptin, 8-epi-Prostaglandin  $F_2\alpha$  und Plazentafunktionsmarker wie die *Plasminogen Activator Inhibitor-1/-2 Ratio* wurden durch Vitaminsubstitution in der Behandlungsgruppe erhöht gemessen. Somit wurde die oxidative Situation des maternalen Plasmas und die Plazentafunktion durch die Vitaminsubstitution nachweislich verbessert (Chapell 2002b).

Neuere Studien, deren Design randomisierte Doppel-blind-Plazebo-Kontrollgruppen vorsah und die gleiche Sublimierung wie Chappell 1999 vornahm, zeigen allerdings, dass die Substitution von Vitamin C und E nicht unbedenklich ist: So konnte Poston ein niedrigeres Geburtsgewicht in der Vitamingruppe feststellen (Poston et al. 2006). Xu und Roberts wiesen sogar einer erhöhte Rate an Gestationshypertonie in den Vitamingruppen nach (Xu et al. 2010, Roberts et al. 2010). Spinnato und Xu beschrieben außerdem eine erhöhte Rate an vorzeitigem Blasensprung in der Vitamingruppe (Spinnato et al. 2007, Xu et al. 2010). Dagegen konnte Villar in einer Multicenterstudie zwar keinen Nutzen durch die Substitution nachweisen, aber auch keinen Schaden (Villar et al. 2009).

Eine speziell auf Typ-I-Diabetes angelegte Multicenter-Studie konnte ebenfalls keinen Schaden durch die Vitamingaben feststellen. Schwangere mit Typ-I-Diabetes und einem niedrigen oxidativen Status zu Beginn der Substitution zeigten eine niedrigere Rate an Präeklampsien und profitierten somit im Vergleich zur Placebogruppe von den Vitamingaben (McLance et al. 2010). Da sich die bisherige Zufuhr von Antioxidantien auf

Vitamine beschränkt hat, wären Studien zur Prophylaxe der PE mit anderen Antioxidantien wünschenswert. In experimentellen Studien wurden beispielsweise antioxidative Enzyme wie die Superoxiddismutase und Katalase bei hypoxischer Ischämie eingesetzt, was zur Reduktion eines cerebellaren Schadens bei Lämmern führte (Liu et al. 1989, Rosemberg et al. 1989). Melatonin und Desferoxamine, ein Chelatbildner für freies Eisen, werden in der Neonatologie bei durch Ischämie verursachtem oxidativen Stress als weitere Radikalfänger diskutiert (Giotto 2002). Die Funktion des freien Eisens ist für die oxidative Situation im maternalen Organismus bedeutend. Siddiqui konnte nachweisen, dass die Konzentration an freiem Eisen und Ferritin im Serum der Frauen mit Präeklampsie im Vergleich zur unauffälligen Kontrollgruppe erhöht ist (Siddiqui et al. 2010 b).

Okatani konnte am Rattenmodell nachweisen, dass Melatonin die durch Ischämie und Minderperfusion induzierte Lipidperoxidation der plazentaren Mitochondrien inhibiert (Okatani et al 2001). Sharma konnte 2003 durch Lycoplenbehandlung einen geringen präventiven Effekt für die Präeklampsie und IUGR beschreiben (Sharma et al 2003).

Besonders für die PE wurde gezeigt, dass das Verhältnis von freien Radikalen und Radikalfängern verändert ist. Zudem dient oxidativer Stress im zweiten Etagenmodell von Roberts als Link, der die verminderte plazentare Perfusion mit der mütterlichen Endothelaktivierung verbindet (Roberts et Hubel 1999). Dieses Modell wurde 2009 modifiziert. Inzwischen wird davon ausgegangen, dass unterschiedliche Faktoren die Plazenta zur Ausschüttung von Endothelfaktoren aktivieren, darunter auch oxidativer Stress. Nach Roberts sollte man bei jeder PE/IUGR von unterschiedlichen Subtypen ausgehen, die schließlich auch zu unterschiedlichen Manifestationen der Präeklampsie führen. Die genauere Betrachtung der Subtypen, wie Roberts sie verlangt, könnte zur Folge haben, dass eine Frau mit niedrigem antioxidativen Status sehr wohl von einer Antioxidantientherapie profitiert (Roberts et al 2009).

## 5.6 Ausblick

Derzeit gibt es weder eine pharmakotherapeutische Behandlung noch ein Management, das eine PE bzw. eine IUGR effektiv verhindern oder deren Komplikationen abmildern könnte. Eine Behandlung mit Acetylsalicylsäure ist zwar kostengünstig und gut verfügbar, zeigt aber nur einen kleinen präventiven Effekt, ohne ernsthafte Nebenwirkungen zu erzeugen (relatives Risiko 0.9 sowohl für PE als auch für IUGR, vgl. Askie et al. 2007). Die im gleichen Jahr erschienene Cochrane-Analyse von Knight konnte einen moderaten Effekt zur Prävention der Präeklampsie nachweisen, forderte aber dazu auf, nur Frauen nach Risikoidentifizierung mit ASS zu behandeln (Knight et al. 2007).

Es ist von essentieller Bedeutung für die Bewertung eines Tests oder einer Versuchsbehandlung, die Folgen eines falsch positiven gegenüber den Folgen eines falsch negativen Tests für die Frau gegeneinander abzuwägen (Roberts et Hubel 2009). Im *Lancet* wurde in diesem Jahr eine internationale Studie veröffentlicht, die klinische Symptome und Laborparameter ausgewertet hat, mit denen man am besten schwere Komplikationen einer Präeklampsie voraussagen kann. Das Gestationsalter zum Zeitpunkt der manifesten Erkrankung, Brustschmerz oder Dyspnoe, Sauerstoffsättigung < 90 %, Thrombozytenzahl, Kreatinin im Serum und die Aspartattransaminase (ASAT) wurden als die wichtigsten Parameter für die Prädiktion der maternalen Mortalität ausgemacht. So macht beispielsweise ein Erkrankungsbeginn vor der 32. SSW für die Mutter ein 20-fach höheres Mortalitätsrisiko aus (van Dadelszen et al 2011).

Die Dysbalance von angiogenen und anti-angiogenen Faktoren, von *placental growth factor* (PlGF), *soluble FMS-like Tyrosine Kinase* (sFlt1) und *soluble Endoglin* (sENG) scheint aktuell das vielversprechendste Modell zu sein. Die Messung der anti-angiogenen Parameter scheint für die Ergänzung mit der Dopplersonographie zur frühen Risikoidentifizierung bei Präeklampsie- und/oder IUGR-Entwicklung geeignet und damit auch wegweisend für einen Therapieansatz zu sein (Stepan et al. 2009). So verschwanden im Tierexperiment durch sFlt1 induzierte Symptome einer Präeklampsie nach VEGF-121-Zuführung (Li et al. 2007).



Stepan etabliert mittlerweile die Messung des sFlt1-/PIGF-Quotienten im klinischen Alltag. Bei einem Quotienten  $> 85$  erfolgt in der Universitätsfrauenklinik Leipzig ein Management der Präeklampsie entsprechend der Leitlinien. Die retrospektiven Ergebnisse sind positiv (Stepan et al. 2010). Deutlich wird an den neueren Entwicklungen, dass die Präeklampsie differenzierter betrachtet werden sollte und dass Entscheidungskriterien nach den neueren Studienlagen verändert werden müssen, so dass die Frauen mit erhöhtem Risiko zum richtigen Zeitpunkt am richtigen Ort sind. Entscheidend bei der Betrachtung der multiplen Manifestationsformen der Präeklampsie ist, ob man zu Gunsten der Reife des Feten die Schwangerschaft verlängern kann, ohne das Leben und die Gesundheit der Mutter zu gefährden. Obwohl keine definitive Therapieoption oder Prävention für die PE/IUGR besteht, zeigt die klinische Expertise, dass sowohl für die Frau als auch für den Feten die frühe Erkennung, das Monitoring und allgemein unterstützende Maßnahmen wie beispielsweise die Lungenreifeinduktion und die Bereitstellung einer optimalen neonatologischen Versorgung von großem Nutzen sind (Wang et al. 2009).

# **Zusammenfassung der Arbeit**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

## **Prädiktive Wertigkeit von Parametern des oxidativen Status bei Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung**

eingereicht von: Anne Heihoff–Klose geb. Heihoff

angefertigt am 15.05.2011 an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig in der  
Universitätsfrauenklinik

betreut von Prof. Dr. med. habil. Holger Stepan eingereicht im Mai 2011

Präeklampsie ist eine der häufigsten schwerwiegenden Schwangerschaftskomplikationen mit einer Inzidenz von ca. 2-8 %. Sie ist durch Hypertonie, Proteinurie und Ödeme charakterisiert, oft kommt noch eine intrauterine Wachstumsretardierung des Fetus dazu. Die Pathogenese ist nach wie vor weitgehend unklar. Mangelhafte Trophoblast-Invasion im Myometrium, endotheliale und leukozytäre Aktivierung durch die Freisetzung von Inflammediatoren wie z. B. Zytokinen in den mütterlichen Kreislauf werden als mögliche Ursache der Entstehung dieser Krankheit angeführt.

Viele Untersuchungen legen nahe, dass Präeklampsie mit oxidativem Stress im mütterlichen Organismus verbunden ist, der einen Endothelschaden verursacht. Daher

stellte sich die Frage, ob Marker für oxidativen Stress vor der klinischen Erscheinung der PE bzw. IUGR messbar sind. Wäre dies der Fall, so die Annahme, könnte für Frauen mit pathologischer uteriner Perfusion ein oxidativer Status erhoben werden, der eine klinisch anwendbare Ergänzung zur Dopplersonographie darstellen könnte.

In dieser Studie konnte ich einen Zusammenhang zwischen dem erhöhten Perfusionswiderstand im uteroplazentaren Gefäßbett und der verminderten TAK im Plasma herstellen. Frauen mit einer uterinen Perfusionsstörung wiesen signifikant niedrigere Konzentrationen an Wasserstoffperoxidäquivalenten auf, als die Kontrollgruppe. Eine Verbesserung der Risikoeinschätzung für die Entwicklung einer PE/IUGR war mit den hier vorliegenden Daten nicht möglich. Die Berechnung des Antioxidativen Quotienten durch die zusätzliche Bestimmung des Harnsäurespiegels konnte die Voraussage ebenfalls nicht verbessern. Aus den Untersuchungsergebnissen wird geschlossen, dass die Minderperfusion die Causa für die Veränderung des oxidativen Status ist. Eine Erklärung der Pathogenese ist durch die vorliegenden Ergebnisse also nicht möglich. Die Messung der neutrophilen Aktivität ließ weder einen Zusammenhang mit der Minderperfusion erkennen, noch verbesserte sie die Vorhersagemöglichkeit für IUGR und PE. Bestätigen kann ich den engen Zusammenhang zwischen pathologischer uteriner Perfusion und Geburtsgewicht. Der gemittelte Pulsatilitätsindex lässt sogar eine annähernde Schätzung des Geburtsgewichts zu. Da meine Betrachtungen auf die Erkrankungen PE und IUGR ohne Unterteilung in *early onset* und *late onset* Präeklampsie oder schwere und leichte Präeklampsie waren, sind von einer Differenzierung und anamnestischer Risikoselektion möglicherweise andere Ergebnisse zu erwarten. Mit den angiogenen Faktoren, denen sich die Arbeitsgruppe um Stepan in den letzten Jahren gewidmet hat, konnte die prädiktive Wertigkeit des Dopplers verbessert werden, ein Wegweiser für die weitere Erforschung der Pathogenese der Präeklampsie, scheint damit gefunden zu sein. Forschungsgrundlagen für Therapieansätze sollten an die unterschiedlichen Subtypen der Präeklampsie angepasst sein. Es wäre sinnvoll, größere randomisierte Studien zur Antioxidantientherapie nicht nur auf Vitamin C und E zu beschränken, da das antioxidative System weitaus mehr Faktoren umfasst, die nutzbar wären.

## Literaturverzeichnis

**Adamson** SL, Morrow RJ, Bascom PA, Mo LY, Ritchie JW.

Effect of placental resistance, arterial diameter, and blood pressure on the uterine arterial velocity waveform: a computer modeling approach.

Ultrasound Med Biol. 1989; 15: 437-442

**Anyaegbunam** A, Brustman L, Langer O.

A longitudinal evaluation of the efficacy of umbilical doppler velocimetry in the diagnosis of intrauterine growth retardation.

Int J Gynecol Obstet. 1991; 34: 121–125

**Aquilina** J, Barnett A, Thompson O, Harrington K.

Comprehensive analysis of uterine artery flow velocity waveforms for the prediction of pre-eclampsia.

Ultrasound Obstet Gynecol. 2000; 16: 163-70

**Aris** A, Benali S, Ouellet A, Moutquin JM, Leblanc S.

Potential biomarkers of preeclampsia: inverse correlation between hydrogen peroxide and nitric oxide early in maternal circulation and at term in placenta of women with preeclampsia.

Placenta. 2009; 30 (4): 342–347

**Askie** L, Duley L, Henderson- Smart J, Stewart L.

Antiplatelet agents for prevention of preeclampsia: a meta-analysis of individual patient data.

Lancet. 2007; (6): 1791-1798

**Aydin** S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S.

Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia.

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004; 113: 21-25.

**Barden** A, Beilin LJ, Ritchie J, Croft KD, Walters BN, Michael CA.

Plasma and urinary 8-iso-prostane as an indicator of lipid peroxidation in pre-eclampsia and normal pregnancy.

Clin Sci (Lond). 1996; 91: 711-718.

**Baschat** AA, Gembruch U, Reiss I, Gortner L, Weiner CP, Harman CR.

Relationship between arterial and venous Doppler and perinatal outcome in fetal growth restriction.

Ultrasound Obstet Gynecol. 2000; 16: 407–413.

- Bats** AS, Lejeune V, Cynober E, Safar E, Gonzales M, Milliez J et al.  
Antiphospholipid syndrome and second- or third-trimester fetal death: follow-up in the next pregnancy  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004; 114(2):125-129
- Behne** D, Wolters W.  
Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women.  
J Chem Clin Biochem. 1979; 17(3): 133-135
- Bellamy** I, Casas JP, Hingorami AD, Williams D.  
Preeclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis.  
BMJ. 2007; 335: 974-82
- Benyo** DF, Miles TM, Conrad KP.  
Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta.  
J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82:1582-1588
- Benyo** DF, Smarason A, Redman CW, Sims C, Conrad KP.  
Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia.  
J Clin Endocrinol Metab. 2001; 86: 2505-2512
- Bolisetty** S, Naidoo D, Lui K, Koh TH, Watson D, Whitehall J.  
Antenatal supplementation of antioxidant vitamins to reduce the oxidative stress at delivery - a pilot study.  
Early Hum Dev. 2002; 67: 47-53
- Bowen** RS, Moodley J, Dutton MF, Theron AJ.  
Oxidative stress in pre-eclampsia.  
Acta Obstet Gynecol Scand. 2001; 80: 719-725
- Brown** MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM.  
The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP).  
Hypertens Pregnancy. 2001; 20: IX-XIV
- Buhimschi** I, Yallampalli C, Chwalisz K, Garfield RE.  
Pre-eclampsia-like conditions produced by nitric oxide inhibition: effects of L-arginine, D-arginine and steroid hormones.  
Human Reprod. 1995; 10: 2723-2730
- Butterworth** BH, Greer IA, Liston WA, Haddad, NG, Johnston TA.  
Immunocytochemical localization of neutrophil elastase in term placenta decidua and myometrium in pregnancy-induced hypertension.  
Brit J Obstet Gynaecol. 1991; 98(9): 929-933

**Campbell S**, Diaz-Recasens J, Griffin DR, Cohen-Overbeck TE, Pearce JM, Wilson K, Teague MJ.

New Doppler Technique for assessing utero-placental blood flow.

Lancet. 1983; 26: 675-677

**Campbell S** Pearce JM, Hackett G, Cohen-Overbeck T, Hernandez C.

Qualitative assessment of utero-placental blood flow: early screening test for high risk pregnancies

Obstet Gynecol. 1986; 68 (5): 649-653

**Caniggia I**, Grisaru-Gravnosky S, Kuliszewsky M, Post M, Lye SJ.

Inhibition of TGF  $\beta$ 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in pre-eclamptic pregnancies.

J Clin Invest. 1999; 103: 1641-1650

**Carreiras MM**, Proverbio T, Proverbio F, Marin R.

Preeclampsia and calcium-ATPase activity of red cell ghosts from neonatal and maternal blood.

Hypertens Pregnancy. 2002; 21: 97-107

**Chade AR**, Rodriguez-Porcel M, Grande JP, Krier JD, Lerman A, Romero C, et al.

Distinct renal injury in early atherosclerosis and renovascular disease.

Circulation. 2002; 106: 1165-1171

**Chappell LC**, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, et al.

Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial.

Lancet. 1999; 354: 810-816

**Chappell LC**, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones S, Mallet AI, Poston LA.

Longitudinal study of biochemical variables in women at risk of pre-eclampsia.

Am J Obstet Gynecol. 2002a; 187, 127-136

**Chappell LC**, Seed PT, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones S, Mallet AI, Poston LA

Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function

Am J Obstet Gynecol. 2002b; 187: 777-784

**Chien PF**, Arnott N, Gordon A, Owen P, Khan KS.

How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview.

Brit J Obstet Gynaecol. 2000; 107(2): 196-208.

**Clark P**, Boswell F, Greer IA.

The neutrophil and preeclampsia.

Semin. Reprod. Endocrinol. 1998; 16(1): 57-64

**Cnossen** JS, Morris RK, ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Coomarasamy A, Zwinderman AH, Robson SC, Bindels PJ, Kleijnen J, Khan KS.

Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis.

CMAJ. 2008; 178(6) : 701-11

**Conde-Agudelo** A, Villar J, Lindheimer M.

World Health Organisation: Systematic review of screening tests for preeclampsia.

Obstet Gynecol. 2004; 104(6): 1367-1391

**Conrad** KP, Benyo DF.

Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia.

Am J Reprod Immunol 1997; 37: 240-249

**Constancia** M, Hemberger M, Hughes J, Dean W, Ferguson-Smith A, Fundele R, Stewart F, Kelsley G, Fowden A, Sibley C, Reik W.

Placental –specific IGF –II is a major modulator of placental and fetal growth.

Nature. 2002; 27(417): 945-948

**Davidge** ST.

Oxidative stress and altered endothelial cell function in preeclampsia.

Semin Reprod Endocrinol. 1998; 16: 65-73

**Davijani** FA.

Untersuchung zur Bedeutung von oxidativen Stress bei Präeklampsie.

Dissertation an der Fakultät der Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen 2005

**De Wolf** F, Robertson WB, Brosens I.

The ultrastructure of acute atherosclerosis in hypertensive pregnancy.

Am J Obstet Gynaecol. 1975; 123: 164-174

**Dekker** GA, Sibai BM.

Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts.

Am J Obstet Gynecol. 1998; 179(5): 1359-1375

**Dietl** J.

The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects.

J Perinat Med 2000; 28(8): 464-471

**Doppler** C. (1907)

Über das farbige Licht der Doppelsterne (1842).

Ostwalds Klassiker, Prag Leipzig

**Duley** L.

The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia.

Semin Perinatol. 2009; 33: 130-137

**Dunlop W**, Davison JM.

The effect of normal pregnancy upon the renal handling of uric acid.  
Br J Obstet Gynaecol. 1977; 84: 13-21

**Egger G**.

Die akute Entzündung; Grundlagen, Pathophysiologie und klinische Erscheinungsbilder der unspezifischen Immunität.  
2005 Springer Verlag

**Erskine RLA**, Ritchie JWK.

Umbilical artery blood flow characteristics in normal and growth retardated fetus  
Br J Obstet Gynaecol. 1985; 92: 605-610

**Faas MM**, Schuiling GA.

Pre-eclampsia and the inflammatory response.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001; 95 (2): 213-217

**Fendel H**, Sohn C.

Dopplersonographie in der Geburtshilfe.  
Springer Verlag; Berlin , Heidelberg; New York; London; Paris ; Tokyo,1989

**Fiore G**, Capasso A.

Effects of vitamin E and C on placental oxidative stress: an in vitro evidence for the potential therapeutic or prophylactic treatment of preeclampsia.  
Med Chem. 2008; 4(6): 526–530

**Fleischer A**, Schulman H, Farmakides G, Bracero L, Blattner P, Randolph G.

Umbilical artery velocity waveforms and intrauterine growth retardation.  
Am J Obstet Gynecol. 1985; 151: 502-505

**Fleischer A**, Schulman H, Farmakides G, Bracero L, Grunfeld L, Rochelson B, Koenigsberg M.

Uterine artery Doppler velocimetry in pregnant women with hypertension.  
Am J Obstet Gynecol. 1986; 154: 806-813

**Friedrich KP**.

Die Bedeutung der Myeloperoxidase in der Pathophysiologie des Vorhofflimmerns  
Dissertation Medizinische Fakultät Hamburg Dez. 2010

**Galan HL**, Ferrazzi E, Hobbins JC.

Intrauterine growth restriction (IUGR): biometric and Doppler assessment.  
Prenat Diagn. 2002; 22 (4): 331-337

**Genbacev O**, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ.

Regulation of human placental development by oxygen tension.  
Science. 1997; 12: 1669-1672



**Gerretsen G**, Huisjes HJ, Elema JD.

Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation.

Br J Obstet Gynaecol. 1981; 88: 876-881

**Giotto E**, Reiter RJ, Karbownik M, Tan D, Giotto P, Barberi S, Barberi I.

Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period

Biol Neonate. 2002; 81: 146-157

**Gosling RG**, Dunbor G, King DH, Newman DL, Side CD, Woodcock JP, Fitzgerald DE.

The quantitative analysis of occlusive peripheral arterial disease by non-intrusive ultrasonic technique.

Angiology. 1971; 22: 52-55

**Granger J**, Alexander B, Llinas M, Bennett W, Khalil R.

Pathophysiology of Hypertension During Preeclampsia Linking Placental Ischemia With Endothelial Dysfunction.

Hypertension. 2001; 38: 718-722

**Guillemont F**, Caspary T, Tilgham SM, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA.

Genomic imprinting of Mash 2, a mouse gene required for trophoblast development.

Nat Genet. 1995; 9: 235-242

**Gulmezoglu AM**, Hofmeyr GJ, Oosthuisen MM.

Antioxidants in the treatment of severe pre-eclampsia: an explanatory randomised controlled trial.

Br J Obstet Gynaecol. 1997; 104: 689-696

**Haeger M**, Unander M, Norder-Hansson B, Tylman M, Bengtsson A.

Complement, neutrophil, and macrophage activation in women with severe preeclampsia and the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count.

Obstet Gynecol. 1992; 79(1): 19-26

**Halliwell B**, Gutteridge JM.

Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview.

Meth Enzymol. 1990; 186: 1-85

**Hammer A**, Desoye G, Dohr G, Sattler W, Malle E.

Myeloperoxidase-dependent generation of hypochloride-modified proteins in human placental tissues during normal pregnancy.

Lab Invest. 2001; 81(4): 543-554

**Hanisch CG**, Pfeiffer KA, Schlebusch H, Schmolling J.

Adhesion molecules, activin and inhibin-candidates for the biochemical prediction of hypertensive diseases in pregnancy?

Arch Gynecol Obstet. 2004; 270(2): 110-115

**Haram** K, Softeland E, Bukowski R.  
Intrauterine growth restriction.  
Int J Gynaecol Obstet. 2006; 93(1): 5-12

**Harrington** KF, Campbell S, Bewley S, Bower S.  
Doppler velocimetry studies of the uterine artery in the early prediction of pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1991; 42: 14-20

**Harrington** KF, Carpenter RG, Goldfrad C, Campbell S.  
Transvaginal Doppler ultrasound of the uteroplacental circulation in the early prediction of pre-eclampsia and intrauterine growth retardation.  
Br J Obstet Gynaecol. 1997; 104: 674-81

**Harrington** KF, Fayyad A, Thakur V, Aquilina J.  
The value of uterine artery Doppler in the prediction of uteroplacental complications in multiparous women.  
Ultrasound Obstet Gynecol. 2004; 23: 50-55

**Hasenöhr** G.  
Normale Flussmuster in den uteroplazentaren und fetalen Gefäßen. S. 39-45  
(Steiner H et Schneider KTM. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie Springer Verlag 2008, 2. Auflage)

**Hayashi** M, Hamada Y, Ohkura T.  
Elevation of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the placenta and blood in preeclampsia.  
Am J Obstet Gynecol. 2004; 190: 456-461

**Heinle** H.  
Physiologie und Pathophysiologie der Arterien; in Marshall M, Breu F (eds):  
Handbuch der Angiologie.  
Landsberg, Ecomed Verlagsgesellschaft, 1999, pp 1-11

**Horstman** LL, Jy W, Jimenez JJ, Ahn YS.  
Endothelial microparticles as markers of endothelial dysfunction.  
Front Biosci. 2004; 9:1118–1135

**Hubel** CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, Mc Laughlin MK.  
Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia  
Am J Obstet Gynecol. 1989; 161: 1025-1034

**Hubel** CA, Mc Laughlin MK, Evan RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM.  
Fasting serum triglycerides, free fatty acids and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated and decrease within 48 hours post partum.  
Am J Obstet Gynecol. 1996; 174: 975-982

**Hubel CA.**

Dyslipidemia, iron, and oxidative stress in preeclampsia: assessment of maternal and feto-placental interactions.

Semin Reprod Endocrinol. 1998; 16: 75-92

**Hubel CA.**

Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia.

Proc Soc Exp Biol Med. 1999; 222: 222-235

**Jendrycko A, Tomala J.**

The total free radical trapping ability of blood plasma in eclampsia.

Zentrbl Gynäkol. 1995 ; 117: 126-129

**Jiang B, Kamat A, Mendolson CR.**

Hypoxia prevents induction of aromatase expression in human trophoblast cells in culture: potential inhibitory role of hypoxia inducible transcription factor Mash 2 (mammalian achaete- scute homologous protein -2.

Mol Endocrinol. 2000; 14: 1661-1673

**Johnson KJ, Varani J, Smolen JE.**

Neutrophil activation and function in health and disease.

Immunol Ser. 1992; 57: 1-46

**Kamoi K, Sudo N, Ishibashi M.**

Plasma endothelin-levels in patients with pregnancy- induced hypertension.

N Engl J Med. 1990; 22: 1486-1487

**Karowicz-Bilinska A, Suzin J, Sieroszewski P.**

Evaluation of oxidative stress indices during treatment in pregnant women with intrauterine growth retardation.

Med Sci Monit. 2002; 8: CR211-CR216

**Käsemann H, Görlitz W.**

Reproduzierbarkeit und Qualitätskontrolle pränataler Doppler- Diagnostik in fetalen und uterinen Gefäßen anhand computergestützter Signalanalyse.

Ultraschall Med 1988; 3: 106

**Kaur G, Mishra S, Sehgal A, Prasad R.**

Alterations in lipid peroxidation and antioxidant status in pregnancy with preeclampsia.

Mol Cell Biochem. 2008; 313 (1–2): 37–44

**Kharb S.**

Altered thiol status in pre-eclampsia.

Gynecol Obstet Invest. 2000a; 50: 36-38

**Kharb S.**

Lipid peroxidation in pregnancy with pre-eclampsia and diabetes.  
Gynecol Obstet Invest. 2000b; 50: 113-116

**Kharb S.**

Total free radical trapping antioxidant potential in pre-eclampsia.  
Int J Gynaecol Obstet. 2000c; 69: 23-26

**Kharb S.**

Vitamin E and C in pre-eclampsia.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000d; 93:37-39

**Khong TY.**

Acute atherosclerosis complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants and diabetes mellitus.  
Arch Pathol Lab Med. 1991; 115: 722-725

**Klebanoff S.**

Myeloperoxidase: friend and foe.  
J Leuc Bio. 2005; 77: 598- 625

**Knapen MF, Mulder TP, Van Rooij IA, Peters WH, Steegers EA.**

Low whole blood glutathione levels in pregnancies complicated by preeclampsia or the hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets syndrome.  
Obstet Gynecol. 1998; 92: 1012-1015

**Knichwitz G, Klockenbusch W.**

Eklampsie und HELLP-Syndrom  
Intensivmedizin up2date 2008;4: 113-133

**Knight M, Duley L, Henderson-Smith DJ, King JF.**

Withdrawn: Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia.  
Cochrane Database Syst Rev. 2007; 18(2): CD000492

**Krauss T, Azab H, Dietrich M, Augustin HG.**

Fetal plasma levels of circulating endothelial cell adhesion molecules in normal and preeclamptic pregnancies.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1998; 78(1): 41–45

**Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF.**

PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH.  
Circ Res 1986; 59: 612-619

**Kumar CA, Das UN.**

Lipid peroxides, anti-oxidants and nitric oxide in patients with pre-eclampsia and essential hypertension.

Med Sci Monit. 2000; 6: 901-907

**Lam in C, Lim KH, Karumanchi SA.**

Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of pre-eclampsia. Hypertension. 2005; 46: 1077-1085

**Lau D, Baldus S.**

Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease.

Pharmacol Ther. 2006; 111: 16-26

**Lefell M, Spitznagel J.**

Intracellular and extracellular degranulation of human polymorphonuclear azurophil and specific granules induced by immune complexes.

Infect Immun. 1974; 10: 1241-1249

**Levine RJ, Maynard SE, Qian C et al.**

Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia.

N England J Med. 2004; 350: 672-683

**Levine RJ, Karumanchi SA.**

Circulating angiogenic factors in preeclampsia.

Hypertension. 2005; 48: 372-386

**Li Z, Zhang Y, Ying Ma J, Kapoun AM, Shao Q, Kerr I, Lam A, O'Young G, Sannajust F, Stathis P, Schreiner G, Karumanchi SA, Protter AA, Pollitt NS.**

Recombinant vascular endothelial growth factor 121 attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of pre-eclampsia.

Hypertension. 2007; 50(4): 686-92

**Lindemann JH, van Zoeren Grobben D, Schrijver J, Speek AJ, Poorthuis BJ, Berger HM.** The total radical trapping ability of cord plasma in preterm and term babies.

Pediatr Res. 1989, 26: 20-24

**Liu TH, Beckman JS, Freeman BA.**

Polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase and catalase reduce ischemic brain injury.

Am J Physiol. 1989; 256: H589-H593

**Llurba E, Gratacos E, Martin-Gallan P, Cabero L, Dominguez C.**

A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in pre-eclampsia and normal pregnancy.

Free Rad Bio Med. 2004; 37: 557-570

- Madazli R**, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N.  
The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in preeclampsia.  
J Obstet Gynaecol. 2002; 22: 477-480
- Many A**, Hubel CA, Roberts JM.  
Hyperuricemia and xanthine oxidase in preeclampsia, revisited.  
Am J Obstet Gynecol. 1996; 174: 288-291
- Many A**, Hubel CA, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y.  
Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia.  
Am J Pathol. 2000; 156: 321-331
- Martin AM**, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH.  
Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation.  
Ultrasound Obstet Gynecol. 2001; 18: 583-586
- Matteo R**, Proverbio T, Cordova K, Proverbio F, Marin R.  
Preeclampsia, lipid peroxidation, and calcium adenosine triphosphatase activity of red blood cell ghosts.  
Am J Obstet Gynecol. 1998; 178: 402-408
- Maynard SE**, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA et al.  
Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1(sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia.  
J. Clin Invest. 2003; 111: 649-658
- Mc Lance D**, Holmes V, Maresh M, Patterson C, Walker J, Pearson D, Yang I.  
Vitamin C and E for prevention of pre-eclampsia in women with type 1 Diabetes (DAPIT): a randomised placebo controlled trial.  
Lancet. 2010; 376: 259-266
- Meekins JW**, Pijnenborg R, Hanssens M, My Fadyen IR, van Asshe A.  
A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies.  
Br J Obstet Gynaecol 1994; 101: 669-674
- Mellembakken JR**, Hogasen K, Mollnes TE, Hack CE, Abyholm T, Videm V.  
Increased systemic activation of neutrophils but not complement in preeclampsia.  
Obstet. Gynecol. 2001; 97(3): 371-374
- Mikhail MS**, Anyaegbunam A, Garfinkel D, Palan PR, Basu J, Romney SL.  
Preeclampsia and antioxidant nutrients: decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, alpha-tocopherol, and beta-carotene in women with preeclampsia.  
Am J Obstet Gynecol. 1994; 171: 150-157

**Miller** NJ, Rice- Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A.  
A novel method of measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.  
Clin Sci. 1993; 84(4): 407-412

**Miller** J, Turan S, Baschat AA.  
Fetal growth restriction.  
Semin Perinatol. 2008; 32: 274–280

**Molvarec** A, Rigo J, Boze T, Derzsy Z, Cervenak L, Mako V et al.  
Increased plasma von Willebrand factor antigen levels but normal von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) activity in preeclampsia.  
Thromb Haemost. 2009; 101(2): 305–311

**Moncada** S, Vane JR.  
Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxan A2 and prostacyclin.  
Pharmacol Rev. 1979; 30: 293-331

**Morris** JM, Gopaul NK, Enderson MJ, Knight M, Linton EA, Dhir S, Ångard EE, Redman CW.  
Circulating markers of oxidative stress are raised in normal pregnancy and preeclampsia.  
Br J Obstet Gynecol. 1998; 105: 1195-1199

**Nemeth** I, Talosi G, Papp A, Boda D.  
Xanthine oxidase activation in mild gestational hypertension.  
Hypertens Pregnancy. 2002; 21: 1-11

**Ness** RB, Roberts JM.  
Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications.  
Am J Obstet Gynecol. 1996; 175: 1365-1370

**Noris** M, Perico N, Remuzzi G.  
Mechanisms of disease: Preeclampsia.  
Nat Clin Pract Nephrol. 2005; 1: 98-114 quiz 120

**O’Riordan** MN, Higgins JR.  
Haemostasis in normal and abnormal pregnancy.  
Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003; 17(3): 385–396

**O’Shaughnessy** RW, Scott GD, Iams D, Zuspan FP.  
Plasma catecholamines in normal pregnancy and in pregnancies complicated by mild chronic hypertension.  
Clin Exp Hypertens. 1983; 2: 113-121

**Okatani** Y, Wakatsuki A, Shinohara K, Taniguchi K, Fukaya T.  
Melatonin protects against oxidative mitochondrial damage induced in rat placenta by ischemia and reperfusion.  
J Pineal Res. 2001; 31: 173-178

**Oremek** GM, Schneider D.  
PMN - Elastase. Ein Entzündungsparameter in der Labordiagnostik.  
mta 1995; 10: 273-278

**Orhan** H, Onderoglu L, Yucel A, Sahin G.  
Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies.  
Arch Gynecol Obstet. 2003; 267(4):189-195

**Padayatty** SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH et al.  
Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention.  
J Am Coll Nutr. 2003; 22(1): 18-35

**Page** EW.  
The relation between hydatid moles, relative ischemia of the gravid uterus, and the placental origin of preeclampsia.  
Am J Obstet Gynecol. 1939; 37: 291-293

**Papageorghiou** AT, Yu CK, Bindra R, Pandis G, Nicolaides KH.  
Multicenter screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation.  
Ultrasound Obstet Gynecol. 2001; 18(5): 441-449

**Paretti** E, Mealli F, Magrini A, Cioni R, Meacci F, La Torre P, Periti E, et al.  
Cross- sectional and longitudinal evaluation of uterine artery Doppler velocimetry for the prediction of pre-eclampsia in normotensive women with specific risk factors.  
Ultrasound Obstet Gynecol. 2003; 22: 160-165

**Patil** SB, Kodliwadmam MV, Kodliwadmam M.  
Lipid peroxidation and antioxidant activity in complicated pregnancies.  
Clin Exp Obstet Gynecol. 2009; 36(2): 110- 112

**Perona** G, Guidi G, Piga A, Cellerino R, Milani G, Colautti P, Moschini G, Stievano BM.  
Neonatal erythrocyte glutathione peroxidase deficiency as a consequence of selenium imbalance during pregnancy.  
Br J Haematol. 1979; 42: 567-574

**Philipp** M, Brede ME; Hadamek K, Gessler M, Lohse MJ, Hein L.  
Placental  $\alpha 2$  – adrenoreceptors control vascular development at the interface between mother and embryo.  
Nat Genetics. 2002; 31: 311- 315



**Pijnenborg** R, McLaughlin PJ, Vercruysse L, Hanssens M, Johnson PM, Keith JC, Jr., Van Assche FA.  
Immunolocalization of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in the placental bed of normotensive and hypertensive human pregnancies.  
Placenta. 1998; 19: 231-239

**Poranen** AK, Eblad U, Uotila P, Ahotupa M.  
Lipidperoxidation and antioxidants in normal and pre-eclamptic pregnancies.  
Placenta. 1996; 17: 401 –405

**Portelinha** A, Belo L, Tejera E, Rebelo I.  
Adhesion molecules (VCAM-1 and ICAM-1) and C-reactive protein in women with history of preeclampsia.  
Acta Obstet Gynecol Scand. 2008; 87(9): 969–971

**Poston** L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH.  
For the Vitamins in Pre-eclampsia (VIP) Trial Consortium. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial.  
Lancet. 2006; 367: 1145–54

**Pourcelot** L.  
Applications clinique de l'examen Doppler transcutane.  
In Peronneau P (ed.): Velocimetric Ultrasonore Doppler. Paris, Inserm.1974; 34: 213

**Quanungo** S, Mukherjea M.  
Ontogenic profile of some antioxidants and lipid peroxidation in human placental and fetal tissues.  
Mol Cell Biochem. 2000; 215(1–2): 11–19

**Radunovic** N, Lochwood CHJ, Alvarez M, Nastic D, Petkovic S, Berkowitz RL.  
Fetal and maternal endothelin levels during the second half of pregnancy.  
Am J Obstet Gynecol. 1995; 172: 28-32

**Raijmakers** MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Hectors MP, Demacker PN, Peters WH.  
Plasma thiol status in preeclampsia.  
Obstet Gynecol. 2000; 95: 180

**Raijmakers** MT, van Tits BJ, Hak-Lemmers HL, Roes EM, Steegers EA, Peters WH.  
Low plasma levels of oxidized low density lipoprotein in preeclampsia.  
Acta Obstet Gynecol Scand. 2004; 83: 1173-1177

**Rath** W, Fischer T.  
Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen.  
Dtsch Arztebl Int. 2009; 106 (45): 733-738

**Rath W, Heilmann L.**  
Thrombophile Risikofaktoren und Schwangerschaftskomplikationen.  
Frauenarzt. 2002; 43: 537-346

**Rath W, Fischer T, Klockenbusch W et al.**  
Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft  
Schwangerschaftshochdruck/Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und  
Geburtshilfe. V. (DGGG). [http://www.uni-duesseldorf.de/awmf/II/015 – 018.htm](http://www.uni-duesseldorf.de/awmf/II/015-018.htm); 2010

**Rath W, Loos W, Kuhn W.**  
HELLP Syndrom  
Zentrabl Gynäkol. 1994; 116: 195-201

**Redline RW, Patterson P.**  
Villitis of unknown etiology is associated with major infiltration of fetal tissue by maternal  
inflammatory cells.  
Am. J. Pathol. 1993; 143 (2): 473-479

**Redline RW, Patterson P.**  
Preeclampsia is associated with an excess of proliferative immature intermediate  
trophoblast.  
Human Pathol. 1995; 26: 594-600

**Redman CW, Beilin LJ, Bonnar J.**  
Renal function in preeclampsia.  
J Clin Pathol Suppl. (R Coll Pathol). 1976; 91-94

**Redman CW, Bonnar J.**  
Plasma urate changes in pre-eclampsia.  
Br Med J. 1978; 1(6125): 1484-1485

**Redman CW.**  
Current topic: Preeclampsia and the placenta  
Placenta. 1991; 12: 301-308

**Redman, CW, Sacks GP, Sargent IL.**  
Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy.  
Am J Obstet Gynecol. 1999; 180 (2): 499-506

**Redman CW, Sargent IL.**  
Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response-a  
review.  
Placenta. 2003; 24 Suppl A: S21-S27

**Redman CW, Sargent IL.**  
Placental stress and pre-eclampsia: a revised view.  
Placenta. 2009; 30 (Suppl A): S38–S42

**Robel R**, Rückhäberle KE, Farber R, Winkler M.  
Reproduzierbarkeit dopplersonographischer Blutströmungsprofile der A. umbilicalis unter der besonderen Berücksichtigung der drohenden Frühgeburt.  
Zentbl Gynäkol. 1991; 113(4): 177-182

**Robel R**, Viehweg B, Farber R.  
Dopplersonographische Perfusionsmessung uteriner, fetaler und fetoplazentarer Gefäße bei Schwangerschaften mit sonographischen Verdacht auf eine fetale Wachstumsretardierung.  
Zentbl. Gynäkol. 1994; 116(2): 85-93

**Roberts JM**, Taylor RN, Musci TJ et al.  
Preeclampsia: an endothelial cell disorder:  
Am J Obstet Gynecol. 1989; 161: 1200-1204

**Roberts JM**, Hubel CA.  
Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia?  
Lancet. 1999; 354: 788-789

**Roberts JM**, Pearson G, Cutler J et.al.  
Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During pregnancy.  
Hypertension. 2002; 41: 437-445

**Roberts JM**.  
Preeclampsia: Is There Value in Assessing Before Clinically Evident Disease?  
Obstet Gynaecol. 2001; 98: 596-599

**Roberts JM**, Hubel CA.  
The two stage model of preeclampsia: Variations on the theme.  
Plazenta. 2009; 30: 32-37

**Roberts JM**, Myatt L, Spong CY, Thom EA, Hauth JC, Leveno KJ, Pearson GD, Wapner RJ, Varner MW, Thorp JM Jr, Mercer BM, Peaceman AM et al.  
Vitamins C and E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension.  
N Engl J Med. 2010; 362: 1282-91

**Robertson WB**, Khong TY.  
Pathology of the uteroplacental bed. In: Sharp F; Symonds EM eds.  
Hypertension in pregnancy Ithaca:  
Perinatology Press. 1987; 101-113

**Rochelson BL**, Schulman H, Farmakides G, Bracero L, Ducey J, Fleischer A et al.  
The significance of absent end –diastolic in umbilical artery velocity waveform.  
Am J Obstet Gynecol. 1987; 156: 1213-1218

**Rosemberg AA**, Murdaugh E, White CW.

The role of oxygen free radicals in postasphyxia cerebral hypoperfusion in newborn lambs.

Pediatr Res. 1989; 26: 215-22

**Rousseau A**, Favier R, Van Dreden P.

Elevated circulating soluble thrombomodulin activity, tissue factor activity and circulating procoagulant phospholipids: new and useful markers for preeclampsia?

Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009; 146(1):46–49

**Rubanyi GM**, Polokoff MA.

Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology.

Pharmacol Rev. 1994; 46: 325-415

**Ruchaud-Sparagano MH**, Drost EM, Donnelly SC, Bird MI, Haslett C, Dransfield I.

Potential pro-inflammatory effects of soluble E-selectin upon neutrophil function.

Eur. J. Immunol. 1998; 28 (1): 80-89

**Rudolph N**, Wong SL.

Selenium and glutathione peroxidase activity in maternal and cord plasma and red cells.

Pediatr Res. 1978; 12: 789-792

**Sabatier F**, Bretelle F, d'Ercole C, Boubli L, Sampol J, Dignat-George F.

Neutrophil activation in preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction.

Am J Obstet. Gynecol. 2000; 183 (6), 1558-1563

**Sacks GP**, Studena K, Sargent K, Redman CW.

Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis.

Am J Obstet Gynecol. 1998; 179: 80-86

**Sankaralingam S**, Arenas IA, Lalu MM, Davidge ST.

Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction.

Expert Rev Mol Med. 2006; 8(3): 1–20

**Scalera F**, Fischer T, Schlembach D, Beinder E.

Serum from healthy pregnant women reduces oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells.

Clin Sci (Lond). 2002; 103: 53-57

**Schaffer H**, Steiner H.

Technik der Blutflussmessung in der Geburtshilfe S. 29-35

(Steiner H et Schneider KTM. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie Springer Verlag 2008, 2. Auflage)

**Schelling M.**

Physikalische und technische Grundlagen der Dopplersonographie S. 13-19  
(Steiner H et Schneider KTM. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie  
Springer Verlag 2008, 2. Auflage)

**Schneider KTM, Loos W.**

10 Jahre geburtshilfliche Dopplersonographie- Entwicklung und Perspektive.  
Geburtsh u Frauenheilk. 1989; 49: 407-415

**Schneider KTM, Steiner H.**

Der SGA - Fetus - die intrauterine Wachstumsrestriktion. S.73-80  
(Steiner H, Schneider KTM. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie  
Springer Verlag 2008, 2. Auflage)

**Schulman H.**

The clinical implications of Doppler ultrasound analysis of the uterine and umbilical  
arteries.  
Am J Gynecol. 1987; 156: 889-893

**Schulz M.**

Jahreszeitliche Abhängigkeit und antioxidativer Status der Präeklampsie an einem  
Referenzkrankenhaus in Zimbabwe.  
Dissertation Medizinische Fakultät der Universität Heidelberg 1998

**Serdar Z, Gur E, Colakoethullary M, Develioethlu O, Sarandol E.**

Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mild and severe  
preeclampsia.  
Arch Gynecol Obstet. 2003; 268: 19-25

**Sharma JB, Kumar A, Malhotra M, Arora R, Prasad S, Batra S.**

Effect of lycopene on pre-eclampsia and intra-uterine growth retardation in  
primigravidas.  
Int J Gynaecol Obstet. 2003; 81(3): 257-262

**Sheppard BL, Bonnar J.**

The ultrastructure of the arterial supply of the human placenta in pregnancy  
complicated by fetal growth retardation.  
Br J Obstet Gynaecol. 1976; 83: 948-959

**Sibai BM, Dekker G, Kupferminc M.**

Pre-eclampsia.  
Lancet. 2005; 365: 785-799

**Sibai BM**, Gordon T, Thom E, Caritis SN, Klebanoff M, Mc Nellis D, Paul RH.  
Risk factors for preeclampsia in healthy nulliparous women: a prospective multicenter study. The National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units.

Am J Obstet Gynaecol.1995; 172: 642-648

**Siddiqui I**, Jaleel A, Tamimi W, Al Kadri H.  
Role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia.  
Arch Gynecol Obstet. 2010a; 282: 469–474

**Siddiqui I**, Jaleel A, Al Kadri H, Al Saeed W, Tamimi W.  
Iron status parameters in preeclamptic women.  
Arch Gynecol Obstet. 2010b; DOI 10.1007/s00404-010-1728-2 (online publication)

**Smith WL**.  
The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action  
Biochem J. 1989; 259: 315-324

**Smith AJ**, Walters WA, Buckley NA, Gallagher L, Mason A, Mc Pherson J.  
Hypertensive and normal pregnancy: A longitudinal study of blood pressure, disensibility of dorsal hand veins and the ratio of the stable metabolites of thromboxane  $A_2$  and prostacyclin in plasma.  
Br J Obstet Gynaecol. 1995; 102: 900-906

**Spinnato JA 2nd**, Freire S, Pinto E, et al.  
Antioxidant therapy to prevent pre-eclampsia: a randomised controlled trial.  
Obstet Gynecol. 2007; 110: 1311–1318

**Sponfeldner, H**.  
PMN –Granulozyten-Elastase im Plasma von Schwangeren mit vorzeitigem Blasensprung- ein relevanter Parameter für die Früherkennung des Amnioninfektionssyndrom.  
28.4.1994 Dissertation Technische Universität München

**Staff AC**, Halvorsen B, Ranheim T, Henriksen T.  
Free 8-Iso-prostaglandin  $F2\alpha$  is elevated in decidua basalis in women with preeclampsia.  
Am J Obstet Gynecol.1999b; 181: 1211-1215

**Staff AC**, Ranheim T, Henriksen T, Halvorsen B.  
8-Iso-prostaglandin  $F2\alpha$  Reduces Trophoblast Invasion and Matrix Metalloproteinase Activity.  
Hypertension. 2000; 35: 1307-1313

**Stallmach** T, Hebisch G, Joller-Jemelka HI, Orban P, Schwaller J, Engelmann, M.  
Cytokine production and visualized effects in the feto-placental unit: quantitative and topographic data on cytokines during intrauterine disease.  
Lab. Invest. 1995; 73 (3): 384-392

**Steffel** J, Lüscher TH.  
Endothelzellen, S.98-104  
(Pötzsch B, Madlener K. Hämostaseologie 2010 Springer Verlag)

**Steiner** H.  
Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie und Präeklampsie. S. 83 – 88  
(Steiner H et Schneider KTM. Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie Springer Verlag 2008, 2. Auflage)

**Stepan** H, Farber R.  
Abnormal uterine perfusion in the second trimester - current pathophysiological, diagnostic and therapeutic aspects.  
Z Geburtshilfe Neonatol. 2004a; 208(6): 205-209

**Stepan** H, Geide A, Farber R.  
Soluble fms-like tyrosine kinase 1.  
N Engl J Med. 2004b; 351: 2241- 2242

**Stepan** H, Unversucht A, Wessel N et al.  
Predictive value of angiogenic factors in second trimester pregnancies with abnormal uterine perfusion.  
Hypertension. 2007; 49: 818-824

**Stepan** H.  
Kapitel 6 Dopplersonographie S. 51-57  
(Wacker J, Sillem M, Bastert G, Beckmann MW. Therapiehandbuch Gynäkologie und Geburtshilfe. 2007; Springer Verlag)

**Stepan** H, Jank A  
Angiogene Faktoren und ihre Rolle in der Entstehung und Vorhersage der Präeklampsie  
Z Geburtsh Neonatol. 2009; 213: 101-105

**Stepan** H, Schaarschmidt W, Jank A, Verlohren S, Kratzsch J.  
Angiogene Faktoren zur Diagnosesicherung bei Präeklampsie in der klinischen Routine: erste Erfahrungen.  
Z Geburtsh Neonatol. 2010; 214: 234-238

**Stone** JL, Lockwood CJ, Berkowitz GS, Alvarez M, Lapinski R, Berkowitz RL.  
Risk factors for severe preeclampsia.  
Obstet Gynecol. 1994; 83: 357-361

**Stratta P**, Canavese C, Porcu M, Dogliani M, Todros T, Garbo E, Belliardo F, Maina A, Marozio L, Zonca M.

Vitamin E supplementation in preeclampsia.  
Gynecol Obstet Invest. 1994; 37: 246-249

**Stuart B**, Drumm J, FitzGerald DE, Duignan NM  
Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy.  
Br J Obstet Gynecol. 1980; 87: 780–785

**Tanaka K**, Wada-Tanaka N, Miyazaki I, Nomura M, Ogawa N.  
Chronic cerebral hypoperfusion induces striatal alterations due to the transient increase of NO production and the depression of glutathione content.  
Neurochem Res. 2002; 27: 331-336

**Taylor RN**, de Groot CJ, Cho YK, Lim KH.  
Circulating factors as markers and mediators of endothelial cell dysfunction in preeclampsia.  
Semin Reprod Endocrinol. 1998; 16: 17-31

**Thaler I**, Weiner Z, Itskovitz J.  
Systolic or diastolic notch in uterine artery blood flow velocity waveforms in hypertensive pregnant patients: relationship to outcome.  
Obstet Gynecol 1992, 80: 277-282

**Thangaratinam S**, Ismail KM, Sharp S, Coomarasamy A, Khan KS  
Accuracy of serum uric acid in predicting complications of pre-eclampsia: a systematic review.  
Br J Obstet Gynecol. 2006; 113(4): 369-78

**Tjoa ML**, Levine RJ, Karumanchi SA.  
Angiogenic factors and preeclampsia.  
Front Biosci. 2007, 12: 2395-2402

**Tsukimori K**, Maeda H, Ishida K, Nagata H, Koyanagi T, Nakano H.  
The superoxide generation of neutrophils in normal and preeclamptic pregnancies.  
Obstet Gynecol. 1993; 81: 536-540

**Uotila J**, R, Aarnio T, Pykko T, Ahotupa M.  
Lipid peroxidation products, selenium-dependent glutathione peroxidase and vitamin E in normal pregnancy.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1991; 42: 95-100

**Uotila JT**, Kirkkola AL, Rorarius M, Tuimala RJ, Metsa-Ketela T.  
The total peroxy radical-trapping ability of plasma and cerebrospinal fluid in normal preeclamptic patients.  
Free Radic Biol Med. 1994; 16: 581-590



**van Wijk** MJ, Kublickiene K, Boer K, van Bavel E.  
Vascular function in preeclampsia.  
Cardiovasc. Res. 2000; 47 (1), 38-48

**Var** A, Kuscü NK, Koyuncu F, Uyanik BS, Onur E, Yildirim Y, Oruc S.  
Atherogenic profile in preeclampsia.  
Arch Gynecol Obstet 2003; 268: 45-47

**Venkatesha** S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE et al.  
Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia.  
Nat Med. 2006; 12: 642-649

**Verdecchia** P, Schillaci G, Reboldi G, Santeusano F, Porcelatti C, Brunetti P.  
Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension. The PIUMA Study  
Hypertension. 2000; 36: 1072-1078

**Verlohren** S, Dudenhausen J.  
Präeklampsie und hypertensive Schwangerschaftserkrankungen.  
Frauenheilkunde up2date. 2009; 6: 461-470

**Villar** J, Purwar M, Merialdi M, Zavaleta N, Thi Nhu Ngoc N, Anthony J, De Greeff A, Poston L, Shennan A. WHO Vitamin C and Vitamin E trial group.  
World Health Organization multicentre randomised trial of supplementation with vitamins C and E among pregnant women at high risk for pre-eclampsia in populations of low nutritional status from developing countries.  
Br J Obstet Gynecol. 2009; 116: 780-88.

**Von Dadelszen** P, Payne B, Li J, et al, for the PIERS Study Group.  
Prediction of adverse maternal outcomes in pre-eclampsia: development and validation of the full PIERS model.  
Lancet. 2011; 377: 219–27

**Walker** JJ.  
Antioxidants and inflammatory cell response in preeclampsia.  
Semin Reprod Endocrinol. 1998; 16: 47-55.

**Wallukat** G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jüpner A  
Patient AT1 Receptor.  
J Clin Invest. 1999; 103: 945-952

**Walsh SW, Behr MJ, Allen NH.**

Preeclampsia: an imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production.  
Am J Obstet Gynecol. 1985; 152: 335-340

**Walsh SW, Wang Y.**

Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides.  
Am J Obstet Gynecol. 1993b; 169: 1456-1461

**Walsh SW, Wang Y, Jesse R.**

Peroxide induces vasoconstriction in the human placenta by stimulating thromboxane.  
Am J Obstet Gynecol. 1993a; 169: 1007-1012

**Walther T, Wallukat G, Jank A, Bartel S, Schultheiss HP, Faber R, Stepan H.**

Angiotensin II type 1 receptor agonistic antibodies reflect fundamental alterations in the uteroplacental vasculature.  
Hypertension. 2005; 46: 1275–1279

**Wang YP, Walsh SW, Guo JD, Zhang JY.**

Maternal levels of prostacyclin, thromboxane, vitamin E and lipid peroxides throughout normal pregnancies.  
Am J Obstet Gynecol. 1991a; 165: 1690-1694

**Wang YP, Walsh SW, Guo JD, Zhang JY.**

The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclampsia is associated with an imbalance between lipid peroxides and vitamin E in maternal blood.  
Am J Obstet Gynecol. 1991b; 165: 1695-1700

**Wang Y, Walsh SW, Kay HH.**

Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia.  
Am J Obstet Gynecol. 1992; 167: 946-949

**Wang Y, Walsh SW.**

TNF alpha concentrations and mRNA expression are increased in preeclamptic placentas.  
J Reprod Immunol. 1996; 32: 157-169

**Wang Y, Alexander J.**

Placental pathophysiology in preeclampsia.  
Pathophysiology. 2000; 6: 261-270

**Wang A, Rana S, Karumanchi A.**

Preeclampsia: The role of angiogenic factors in its pathogenesis  
Physiology. 2009; 24: 147-158

**Warso** MA, Lands WE.

Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and pathophysiology.

Br Med Bull. 1983; 39: 277-280

**Watson** AL, Palmer ME, Jauniaux E, Burton GJ.

Variations in expression of copper/zinc superoxide dismutase in villous trophoblast of the human placenta with gestational age.

Plazenta. 1997; 18: 295-299

**Weber** CH.

Monozyten und Leukozyten S. 106-109

(Pötzsch B, Madlener K. Hämostaseologie 2010 Springer Verlag)

**Williams** JW.

Premature separation of the normally implanted placenta.

Surg. Gynecol. Obstet. 1915; 21: 541-54

**Wisdom** SJ, Wilson R, Mc Killop JH, Walker JJ.

Antioxidant systems in normal pregnancy and in pregnancy induced hypertension.

Am J Obstet Gynecol. 199; 165: 1701-1704

**Xia** Y, When HY, Kellem RE.

Angiotensin II inhibits human trophoblast invasion through AT1 receptor activation.

J Biol Chem. 2002; 277: 24601- 24608

**Xu** H, Perez-Cuevas R, Xiong X, et al.

An international trial of antioxidants in the prevention of preeclampsia (INTAPP).

Am J Obstet Gynecol. 2010; 202: 239.e1–10.

**Yoder** SR, Thornburg LL, Bisognano JD.

Hypertension in pregnancy an women of childbearing age.

Am J Med 2009; 122(10): 890-895

**Zachara** BA, Wardak C, Didkowski W, Maciag A, Marchaluk E.

Changes in blood selenium and glutathione concentrations and glutathione peroxidase activity in human pregnancy.

Gynecol Obstet Invest. 1993, 35: 12-17

**Zeek** PM, Assali NS.

Vascular changes in the decidua associated with eclamptogenic toxemia of pregnancy.

Am J Clin Pathol.1950;20: 1099-1109

**Zhou** Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejena E, Wheelock M, Damsky.

Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate: a strategy for successful endovascular invasion?

J Clin Investigation. 1997a; 99: 2139-2151

**Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ.**

Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblast to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? J Clin Investigation. 1997b; 99: 2152-2164

**Zusterzeel PL, Wanten GJ, Peters WH, Merkus HM, Steegers EA.**

Neutrophil oxygen radical production in pre-eclampsia with HELLP syndrome. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001; 99: 213-218

**Zusterzeel PL, Steegers-Theunissen RP, Harren FJ, Stekking E, Kateman H, et al.**

Ethene and other biomarkers of oxidative stress in hypertensive disorders of pregnancy.

Hypertens Pregnancy. 2002; 21: 39-49

## Abkürzungsverzeichnis

<b>A.</b>	Arteria
<b>Aa.</b>	Arteriae
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>AK</b>	Antikörper
<b>APL</b>	<i>Amionic Phospholipid</i>
<b>ASAT</b>	Aspartat-Aminotransferase
<b>AQ</b>	Antioxidativer Quotient
<b>AT1- AA</b>	Angiotensin I Rezeptor Antikörper
<b><math>\alpha_2</math>-M</b>	Makroglobulin- Alpha 2
<b>B- Bild</b>	Darstellung zweidimensionaler Ultraschallbilder
<b>BE</b>	Blutentnahme
<b>C - Protein</b>	Vitamin-K-abhängiges in der Leber synthetisiertes Proenzym
<b>CD</b>	<i>Cluster Designation, Cluster of Differentiation</i> , antigene Oberflächenstruktur
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Chlorid
<b>cw</b>	<i>colour wave</i>
<b>DA</b>	Dalton
<b>dl</b>	Deziliter
<b>df</b>	Differenz um eine Einheit
<b>E</b>	Entbindung
<b>E- Selectin</b>	Zelladhäsionsmolekül an Plasmamembranen von Endothelzellen
<b>EDRF</b>	<i>Endothelium Derived Relaxing Factor</i>
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraessigsäure

<b>ELISA</b>	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
<b>Exp(B)</b>	<i>odds ratio</i>
<b>Faktor IX</b>	<i>Christmas-Faktor</i> , Antihämophiles Globulin B
<b>Faktor IXa</b>	Plasma Thromboplastin Antecedent
<b>Faktor X</b>	Stuart-Prower-Faktor, Thrombokinase
<b>Faktor Xa</b>	aktivierter Faktor X
<b>g</b>	Gramm
<b>G - PCR</b>	<i>G- Protein Coupled Receptor</i>
<b>GM-CSF</b>	<i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
<b>GPx</b>	Glutathionperoxidase
<b>h</b>	Stunde
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Wasser
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Wasserstoffperoxid
<b>HASH 2</b>	plazentarer Transkriptionsfaktor, der im Tiermodell wichtig für die normale Entwicklung des frühen Trophoblasten ist
<b>Hb</b>	Hämoglobin
<b>HELLP</b>	<i>Hemolysis, Elevated Liver Enzyme Levels, and a Low Platelet Count</i>
<b>HOCl</b>	Hypochlorige Säure
<b>IL 6</b>	Interleukin 6
<b>ImAnNox</b>	Photometrisches Testsystem zur Bestimmung des gesamten oxidativen Status in Serum und EDTA Plasma ( Immundiagnostik AG)
<b>IU</b>	International Unit
<b>IUGR</b>	<i>Intrauterine Growth Restriction</i> - intrauterine Wachstumsretardierung
<b>KAT</b>	Katalase
<b>kDA</b>	Kilo-Dalton

<b>KHK</b>	Koronare Herzerkrankungen
<b>KK</b>	Korrelationskoeffizient
<b>L- Selectin</b>	Zelladhäsionsmolekül der Leukozyten
<b>m/s</b>	Meter pro Sekunde
<b>MASH 1</b>	<i>Mammalian Achaete- Scute Homologous Protein</i>
<b>M-CSF</b>	<i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
<b>MDA</b>	Malondialdehyd
<b>mg</b>	Milligramm
<b>ml</b>	Milliliter
<b>mmHg</b>	Millimeter Quecksilbersäule
<b>MPO</b>	Myeloperoxidase
<b>N</b>	Fallzahl
<b>NAD</b>	Nicotinamidadenindinukleotid
<b>NADP+</b>	Oxidierte Form des Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
<b>NADPH</b>	Reduzierte Form des Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
<b>ng</b>	Nanogramm
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NO<sub>2</sub></b>	Stickstoffdioxid
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Nitrit-Anion
<b>ns</b>	nicht signifikant
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superoxidanion
<b>OD</b>	Optische Dichte
<b>PAF</b>	<i>Platelet Activating Factor</i>
<b>PBS</b>	<i>Phosphate Buffered Saline</i>

<b>PCAM</b>	Zelladhäsionsmolekül P
<b>PDGF</b>	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
<b>PGF<sub>1</sub>α</b>	Prostaglandin F <sub>1</sub> α
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostazyclin
<b>pHNA</b>	pH (pondus Hydrogenii) Wert der Nabelschnurarterie post partum
<b>PI</b>	Pulsatilitätsindex
<b>PLGF</b>	<i>Placental Growth Factor</i> - Pro- Angiogenese – Faktor
<b>PMIT</b>	Gemittelte Pulsatilitätsindizes
<b>PMN</b>	<i>Polymorph Nuclear Leukocyte</i> , humaner neutrophiler Granulozyt
<b>PRF</b>	<i>Pulse Repitition Frequency</i>
<b>PSG 1</b>	P- Selectin Glycoprotein Ligand -1
<b>pw</b>	<i>pulsed wave</i>
<b>Px</b>	Peroxidase
<b>R</b>	Radikalintermediate
<b>RH</b>	Oxidierbare physiologische Substrate
<b>RI</b>	Resistenzindex
<b>ROS</b>	Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygene species)
<b>RR</b>	Relatives Risiko
<b>RT</b>	Raumtemperatur
<b>S.D.</b>	<i>Standard Deviation</i> , Standardabweichung
<b>sENG</b>	<i>Soluble Endoglin</i>
<b>sFlt1</b>	<i>soluble fms-like tyrosine kinase -1</i>
<b>SGA</b>	<i>Small for gestational age</i>
<b>Sig.</b>	Signifikanz



<b>SOD</b>	Superoxiddismutase
<b>SS</b>	Schwangerschaft
<b>SSW</b>	Schwangerschaftswoche
<b>Stf.</b>	Standardfehler
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>TAK</b>	Totale Antioxidative Kapazität
<b>TF</b>	<i>Tissue Factor</i> , Faktor III, Thromboplastin
<b>TGF β3</b>	<i>Transforming Growth Factor β3</i> , Zytokin im Zusammenhang mit Heilungsprozessen und Fibrosierung.
<b>TMB</b>	Tetramethylbenzidin
<b>TMFα</b>	Tumornekrosefaktor alpha
<b>TOOS</b>	N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methylanilin
<b>TRAP</b>	<i>Total Peroxyl Radical-Trapping Capability of Plasma</i>
<b>TXA<sub>2</sub></b>	Thromboxan A <sub>2</sub>
<b>VCAM</b>	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
<b>VEGF</b>	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
<b>Vitamin C</b>	Ascorbinsäure
<b>Vitamin E</b>	Tocopherol
<b>Vitamin A</b>	Retinal (Carotinoid)
<b>vs.</b>	versus
<b>XOD</b>	Xanthinoxidase
<b>μl</b>	Mikroliter
<b>μmol</b>	Mikromol
<b>8-Iso-PGF<sub>2</sub>α</b>	8- Iso-Prostaglandin F <sub>2</sub> α

## Anhang

### Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

.....

Datum

... ..

Unterschrift

## **Danksagung**

Zum Ende dieser Arbeit möchte ich das Danken nicht vergessen.

Zuerst gilt Herrn Prof. Dr. Stepan Dank für die Überlassung dieses interessanten Themas, für seine anhaltende Hilfs- und Diskussionsbereitschaft, seine fachliche Betreuung und die Möglichkeit zur Teilnahme an Kongressen und Publikationen mit Unterstützung seinerseits.

Des Weiteren möchte ich mich bei Diplom Soziologe Wolf Riepel für die hilfreiche statistische Beratung, beim Laborteam der Universitätsfrauenklinik Leipzig für die Unterstützung meiner Arbeit im Labor, bei Christian Otto und Birger Kreft für das Durchlesen meiner Arbeit mit dem kritischen Blick auf Rechtschreibung und Formatierung und einigen Hinweisen auf unglücklichen Formulierungen, bei Daniela Klose, Christian Braun und Mathias Schulze für Anregungen zur Verschönerung meiner Abbildungen bedanken. Für das Interesse am Fortgang meiner Arbeit danke ich meinem Chefarzt Dr. Robel und Frau Dr. Juliane Richter.

Ganz besonderen Dank möchte ich meiner Familie aussprechen, meinem Vater, meiner Mutter, meinen Geschwistern und meinen Kindern Lucie und Linn für die stetige Aufmunterung und Motivation.

Am Ende bedanke ich mich bei meinem Mann, Marc, der mich moralisch und seelisch sehr unterstützt hat und mir bei technischen Fragen zum Computer stets eine große Hilfe war.

## **Veröffentlichungen und Auszeichnungen**

Stepan H, Heihoff-Klose A, Faber R. Pathological uterine perfusion in the second trimester is not associated with neutrophil activation. Hypertension in Pregnancy. 2003; 22: 239-45

Stepan H, Heihoff-Klose A, Faber R. Reduced antioxidant capacity in second-trimester pregnancies with pathological uterine perfusion. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (England). 2004; 23(6): 579-83

Heihoff A., Faber R., Stepan H. Award for the best oral presentation of the session Gynaecology/Obstetrics für: 'Decreased antioxidative capacity in second trimester pregnancies with pathological perfusion. '13th European Students' Conference 2002, Berlin, November 2002.

Heihoff-Klose A., Faber R., Stepan H. Young Investigator Award für: 'Antioxidative Kapazität zur Risikostratifizierung hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen.' 26. Wissenschaftliche Tagung der Deutschen Hypertonie Gesellschaft, Dresden November 2002.

---

Leipzig, den 15.05.2011

Anne Heihoff -Klose